

孤独症谱系障碍儿童维生素 B₁₂ 及相关代谢产物 MMA 和转运蛋白 TCN2 的病例对照研究

邹明扬, 李玲, 李德欣, 马永娟, 孙彩虹, 武丽杰

哈尔滨医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学教研室, 黑龙江 150081

【摘要】 目的 探讨孤独症谱系障碍(ASD)儿童体内维生素 B₁₂水平,为 ASD 早期发现及药物治疗提供理论依据。方法 收集哈尔滨市 ASD 儿童和正常对照儿童各 89 人,应用酶联免疫吸附试验技术(ELISA)测定尿液甲基丙二酸(Methylmalonic acid, MMA)及血清维生素 B₁₂、转运蛋白转钴胺素蛋白 II (Transcobalamin II, TCN2)的含量,应用 SNaPshot 对 TCN2 基因 rs1801198 位点进行基因分型。结果 ASD 儿童的血清维生素 B₁₂和 TCN2 水平[(369.08±131.88)pmol/L, (1.56±0.16)ng/mL]均低于对照组儿童[(485.16±200.33)pmol/L, (1.71±0.17)ng/mL](*t*值分别为-5.47, -5.92, *P*值均<0.05), ASD 儿童尿液中 MMA 水平[(758.97±106.96)ng/mL]高于对照组[(693.66±121.72)ng/mL](*t*=3.94, *P*<0.05);TCN2 基因 rs1801198 位点基因多态性与 ASD 的患病风险的关联无统计学意义(*P*值均>0.05),与血清 TCN2 水平的关联无统计学意义(*F*=1.16, *P*>0.05)。结论 ASD 儿童维生素 B₁₂潜在缺乏,应在开展 ASD 干预的同时加强营养干预。

【关键词】 孤独性障碍;维生素 B₁₂;甲基丙二酸;病例对照研究;儿童

【中图分类号】 R 749.94 R 446.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2019)04-0490-04

Case-control study of vitamin B₁₂ and metabolite MMA and transporter TCN2 in children with ASD/ZOU Mingyang, LI Ling, LI Dexin, MA Yongjuan, SUN Caihong, WU Lijie. Department of Children's and Adolescent Health, Public Health College, Harbin Medical University, Harbin(150081), China

【Abstract】 Objective To investigate the level of vitamin B₁₂ in children with autism spectrum disorder(ASD), and provide a theoretical basis for early detection and drug treatment of ASD. **Methods** A total of 89 ASD cases and 89 matched controls were collected. The levels of urinary methylmalonic acid (MMA) and serum vitamin B₁₂, Transcobalamin II (TCN2) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). TCN2 gene rs1801198 was genotyped by SNaPshot. **Results** The serum levels of vitamin B₁₂ and TCN2 in children with ASD [(369.08±131.88)pmol/L, (1.56±0.16)ng/mL] were significantly lower than those in the control group[(485.16±200.33)pmol/L, (1.71±0.17)ng/mL](*t*=-5.47, -5.92, *P*<0.05). The level of MMA in urine of ASD children [(758.97±106.96)ng/mL] was significantly higher than that in the control group[(693.66±121.72)ng/mL](*t*=3.94, *P*<0.05); The genetic polymorphism of rs1801198 locus was not associated with the risk of ASD(*P*>0.05), and there was no significant correlation with serum TCN2 level(*F*=1.16, *P*>0.05). **Conclusion** ASD children are at a potential deficiency of vitamin B₁₂ and should strengthen their nutritional interventions while conducting ASD interventions.

【Key words】 Autistic disorder; Vitamin B₁₂; Methylmalonic acid; Case-control studies; Child

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是以社交沟通障碍、重复刻板行为及狭窄的兴趣爱好为主要特征的行为发育障碍性疾病^[1]。流行病学调查数据显示,在全球范围内 ASD 患病率近年来呈现不同程度的上升趋势^[2],成为世界上患病人数增长最快的神经发育障碍性疾病,然而 ASD 病因及发病机制迄今仍然不明确^[3-4]。有研究发现,维生素 B₁₂在神经发育过程中发挥重要的作用^[5-7],推测与 ASD 的发病可能存在关联。因此,本研究拟采用病例对照的研究方法探讨维生素 B₁₂、代谢产物甲基丙二酸(Methylmalonic acid, MMA)水平及转运蛋白转钴胺素蛋白 II

(Transcobalamin II, TCN2)与 ASD 发病的关联性,以期为 ASD 的诊断和临床治疗提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 对象

1.1.1 ASD 组 招募 2015 年 7 月—2018 年 6 月在哈尔滨医科大学儿童行为发育中心和黑龙江省残联进行康复训练的 ASD 儿童共 89 名,年龄 3~12 岁,平均(6.71±2.96)岁,其中男童 78 名(87.6%),女童 11 名(12.4%);入组的 ASD 儿童均经由 2 名副高以上职称精神科医生或儿科医生明确诊断,符合美国《精神疾病诊断和统计手册:第 5 版》(DSM-V)^[1]孤独症谱系障碍诊断标准,同时应用孤独症诊断观察量表(Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS)^[8]、孤独症诊断访谈量表修订版(Autism Diagnostic Interview-Revised, ADI-R)^[9]、韦氏幼儿智力量表(Wechsler Pre-

【作者简介】 邹明扬(1987-),女,黑龙江省人,博士,讲师,主要研究方向为儿童发育障碍及行为问题。

【通讯作者】 武丽杰, E-mail: wulijiehyd@126.com。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2019.04.004

school and Primary Scale of Intelligence, WPPSI-IV)^[10] 及韦氏儿童智力量表(Wechsler Intelligence Scale for Children, WISC-IV)^[10] 进行辅助诊断。在采血 1 周前嘱其进行正常饮食,不做剧烈活动。排除近期(3 个月内)服用维生素补充剂的儿童。ADOS 是通过直接观察患儿获得相应资料,根据患儿的表达性语言能力和发育水平分为 4 个模块,按 0~3 分共 4 级评分,“0”表示该条目无异常,“1”表示轻微异常,“2”或“3”表示存在明确的异常。分为 4 个领域:沟通;相互性社会互动;游戏(模块 1)、想像/创造力(模块 2~4);刻板行为和局限兴趣。分值越高损伤程度越严重。ADI-R 是半定式的家长访谈工具,主要集中于社会交互作用、语言交流、游戏及刻板重复的行为和兴趣等方面,了解患儿目前及过去行为。行为条目主要分为 4 个领域:社交互动;交流(语言和非语言);重复刻板行为;早期发育异常。分值越高损伤越重。

1.1.2 对照组 按照与 ASD 儿童的性别、年龄 1:1 匹配原则,在哈尔滨地区的幼儿园和中小学中选取正常发育儿童作为对照组,排除神经精神类疾病及其他遗传性疾病,平均年龄为(6.68±2.92)岁,其中男童 78 名(87.6%),女童 11 名(12.4%)。性别和年龄与 ASD 组儿童间差异均无统计学意义(*P* 值均>0.05)。

所有入组儿童的父母或监护人均签署知情同意书,并经哈尔滨医科大学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 血液样本采集 用真空促凝管采集 ASD 及对照组儿童清晨空腹静脉血 3 mL,震荡摇匀,静置 30 min,在 4℃低温离心机中 2 000 r/min 离心 20 min,将血清分离至 1.5 mL 离心管中。用含有乙二胺四乙酸 EDTA 的采血管采集 ASD 及对照组儿童抗凝血 1 mL,用于提取基因组 DNA,在批量检测之前保存在 -80℃,以避免反复冻融。

1.2.2 尿液样本采集 应用无菌采尿管采集 ASD 及对照组儿童的晨尿样本,并记录尿样总量。在 4℃低温离心机中 2 000 r/min 离心 10 min,取上清,-80℃冰箱中保存备用,剔除遗尿、夜间排尿或尿量不足 5 mL 者。

1.2.3 维生素 B₁₂,TCN2 和 MMA 检测 采用酶联免疫吸附实验技术(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测两组血清 TCN2 及尿液 MMA 的含量。

1.2.4 TCN2 基因 rs1801198 位点多态性检测 使用 QIAamp genomic DNA kits(51106)试剂盒提取人类基因组 DNA。根据美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)网站上查询的 SNPs 位点信息设计引物,TCN2 基因 rs1801198 位点(C776G)位于 22 号染色体。rs1801198 位点引物序列 F5'-TGCCATTACAGGTGG-GAAAGA-3, R5'-GAAATCATGAGAGCATTCTGGAA

GG-3',应用 SNaPshot 方法进行位点的多态性检测。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 19.0 统计软件对检测数据进行分析。采用配对 *t* 检验分析维生素 B₁₂,MMA 及 TCN2 在 ASD 及对照组儿童间的差异。应用 χ^2 检验判断基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg 平衡,采用条件 Logistic 回归模型分析检验 TCN2 等位基因与基因型分布在 ASD 及对照组儿童间的差异。所有检验均为双侧检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ASD 儿童诊断评估信息 ASD 儿童诊断评估相关信息见表 1。

表 1 ASD 儿童临床表型特征评分(*n*=89)

| 指标 | 分数 | 范围 |
|------------|-------------|--------|
| 沟通 | 6.44±1.41 | 2~10 |
| 社会互动 | 9.97±2.01 | 6~14 |
| 沟通+社会互动 | 16.40±2.91 | 11~23 |
| 社交互动 | 23.15±4.52 | 10~30 |
| 交流 | 16.58±3.59 | 7~24 |
| 刻板行为 | 6.73±2.32 | 0~12 |
| 早期发育异常 | 3.92±1.18 | 0~5 |
| 认知水平(总 IQ) | 51.65±19.14 | 34~107 |

2.2 两组儿童维生素 B₁₂,MMA 及 TCN2 水平的差异 ASD 儿童的血清维生素 B₁₂,TCN2 水平低于对照组儿童,尿液中 MMA 水平高于对照组(*P* 值均<0.05)。见表 2。

表 2 ASD 组与对照组维生素 B₁₂,MMA 及 TCN2 水平比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 人数 | 维生素 B ₁₂ / (pmol·L ⁻¹) | MMA/ (ng·mL ⁻¹) | TCN2/ (ng·mL ⁻¹) |
|------------|----|--|--------------------------------|---------------------------------|
| ASD 组 | 89 | 369.08±131.88 | 758.97±106.96 | 1.56±0.16 |
| 对照组 | 89 | 485.16±200.33 | 693.66±121.72 | 1.71±0.17 |
| <i>t</i> 值 | | -5.47 | 3.94 | -5.92 |
| <i>P</i> 值 | | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

2.3 两组儿童 TCN2 基因多态性的差异 经 χ^2 吻合度检验,所有样本都符合 Hardy-Weinberg 平衡法则(*P*>0.05)。Logistic 回归模型分析结果显示,TCN2 基因 rs1801198 位点等位基因和基因型在 ASD 儿童和对照组儿童中差异无统计学意义;该位点的基因多态性与 ASD 的患病风险不存在关联(*P* 值均>0.05)。见表 3。

表 3 ASD 组和对照组等位基因频率和基因型频率分布

| 组别 | 等位基因 | | 基因型 | | |
|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|
| | G | C | GG | GC | CC |
| 对照组 | 104(58.4) | 74(41.6) | 31(34.8) | 42(47.2) | 16(18.0) |
| ASD 组 | 86(48.3) | 92(51.7) | 19(21.3) | 48(53.9) | 22(24.7) |
| OR 值 | 1.50 | | 1.87 | 2.24 | |
| OR 值 95%CI | 0.99~2.29 | | | 0.92~3.78 | 0.95~5.31 |
| <i>P</i> 值 | 0.06 | | | 0.08 | 0.07 |

注:()内数字为构成比/%。

2.4 TCN2 基因多态性与血清 TCN2 水平的关联 方差分析显示,TCN2 基因 rs1801198 位点基因型 CC,

CG, GG 血清 TCN2 水平分别为 (1.62 ± 0.20) (1.63 ± 0.16) (1.67 ± 0.19) ng/mL, 差异无统计学意义 ($F = 1.16, P > 0.05$)。

3 讨论

维生素 B₁₂ 也称钴胺素, 不能由人体自身合成, 主要来源于动物食品。体内维生素 B₁₂ 水平缺乏会出现功能性叶酸缺乏的症状, 干扰神经系统的正常发育, 尤其在儿童发育早期将造成大脑永久的不可逆损伤。已有研究发现, 维生素 B₁₂ 与多种神经发育障碍性疾病有关^[5,7]。本研究初步探讨维生素 B₁₂ 与 ASD 的关联, 分析维生素 B₁₂ 及其相关代谢产物 MMA、转运蛋白 TCN2 在 ASD 儿童与对照组儿童间存在的水平差异, 并对 TCN2 基因 rs1801198 位点多态性进行了检测, 为孤独症的早期筛查诊断、临床靶向综合康复和精准治疗提供新的思路。

本课题通过病例对照研究发现, ASD 儿童血清维生素 B₁₂ 水平低于对照组。Ali 等^[4]对 40 对 3~5 岁 ASD 儿童及其对照进行血清维生素 B₁₂ 的检测发现, ASD 儿童体内存在维生素 B₁₂ 缺乏; Al-Farsi 等^[11]的研究也发现, ASD 儿童血清维生素 B₁₂ 水平较对照儿童低。然而孙彩虹等^[12]研究发现, 尽管 ASD 儿童的血清维生素 B₁₂ 低于对照组, 但差异没有统计学意义。维生素 B₁₂ 与 ASD 的关联仍无法确定, 本研究虽然发现 ASD 儿童血清维生素 B₁₂ 低于对照组儿童, 但是依然在正常医学参考值范围 (148~738 pmol/L) 内^[13]。事实上, 维生素 B₁₂ 缺乏症常是由于维生素 B₁₂ 在体内的吸收和代谢障碍引起的, 仅通过检测外周维生素 B₁₂ 水平就说明身体是否存在维生素 B₁₂ 缺乏是不充分的, 结合维生素 B₁₂ 的转运蛋白 TCN2 及调节的代谢物质 (如 MMA) 更能说明其功能和活性状态。因此, 本研究进一步对维生素 B₁₂ 及其调节的代谢产物 MMA、转运蛋白 TCN2 的水平进行了检测。

本研究发现, ASD 儿童尿液中 MMA 水平高于对照组儿童, 从侧面说明 ASD 儿童体内维生素 B₁₂ 的水平处于潜在缺乏状态。MMA 是由丙酸、胸腺嘧啶等代谢过程产生的甲基丙二酰 CoA 分解生成, 维生素 B₁₂ 作为甲基丙二酰 CoA 变位酶的辅酶可催化甲基丙二酰 CoA 转变为琥珀酰 CoA, 当维生素 B₁₂ 缺乏时这一反应受到抑制, 导致甲基丙二酰 CoA 分解成 MMA 蓄积在体内, 最终随尿液排出。已有研究证实尿液中 MMA 水平与维生素 B₁₂ 水平呈负相关^[14], 通过检测尿液中 MMA 水平可以用于早期筛查维生素 B₁₂ 缺乏。

维生素 B₁₂ 与 TCN2 蛋白结合才能成为可被身体利用的活性钴胺素, 这是能够代表维生素 B₁₂ 功能活性状态的一个指标^[15]。Mitchell 等^[16]研究还发现, TCN2 与多种神经精神疾病存在显著的关联。本研究

结果表明, TCN2 水平在 ASD 儿童体内明显低于对照儿童, 说明 ASD 儿童体内活性维生素 B₁₂ 可能不足, 并推测 TCN2 与 ASD 发病可能存在关联。进一步考虑到 TCN2 蛋白的低表达可能与其基因调控有关联, 因此选用 TCN2 基因 rs1801198 位点进行基因多态性的检测。TCN2 基因 rs1801198 位点是研究较多的, 与维生素 B₁₂ 代谢显著相关的突变位点。也有一些研究证明, 该突变位点与 ASD 患病风险升高有关联^[5,15,17]。但本研究结果表明, 该位点的基因多态性与 ASD 的患病风险不存在关联, 与 Zhang 等^[18]研究结果一致。此外, 未发现 TCN2 基因型分布与血清 TCN2 水平的关联性, 可能是由于突变位点的突变率较低, 本研究的样本量不足等原因导致统计学的差异。尽管如此, 本研究结果说明, 在有限的研究样本中, TCN2 血清水平并不能由 TCN2 基因位点突变来解释。

本研究存在的不足之处: 样本大多来源于东北地区, 代表性欠缺, 且样本量较小, 需要进一步扩大样本量, 并进行人群追踪和随访来阐明维生素 B₁₂ 在 ASD 的发生发展中的确切作用, 为 ASD 的靶向治疗提供依据。

综上所述, 在检测维生素 B₁₂ 水平的基础上, 并与维生素 B₁₂ 相关的代谢物质 MMA 及转运蛋白 TCN2 的水平进行相关分析, 表明 ASD 儿童处于维生素 B₁₂ 潜在缺乏的状态中, 然而仍然没有维生素 B₁₂ 与 ASD 的直接因果证据, 需要进一步深入研究。

4 参考文献

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders [M]. 5th ed. Washington DC: American Psychiatric Association, 2013: 58-62.
- [2] ZABLOTSKY B, BLACK L I, MAENNER M J, et al. Estimated prevalence of autism and other developmental disabilities following questionnaire changes in the 2014 national health interview survey [J]. Natl Health Stat Rep, 2015 (87): 1-20.
- [3] XU G, STRATHEARN L, LIU B, et al. Prevalence of autism spectrum disorder among us children and adolescents, 2014-2016 [J]. JAMA, 2018, 319(1): 81-82.
- [4] ALI A, WALY M I, AL-FARSI Y M, et al. Hyperhomocysteinemia among omani autistic children: a case-control study [J]. Acta Biochim Pol, 2011, 58(4): 547-551.
- [5] SCHMIDT R J, HANSEN R L, HARTIALA J, et al. Prenatal vitamins, one-carbon metabolism gene variants, and risk for autism [J]. Epidemiology, 2011, 22(4): 476-485.
- [6] RAGHAVAN R, RILEY A W, VOLK H, et al. Maternal multivitamin intake, plasma folate and vitamin B₁₂ levels and autism spectrum disorder risk in offspring [J]. Paediatr Perinat Epidemiol, 2018, 32(1): 100-111.
- [7] CASTILLO-LANCELOTTI C, MARGOZZINI P, VALDIVIA G, et al. Serum folate, vitamin B₁₂ and cognitive impairment in Chilean older adults [J]. Public Health Nutr, 2015, 18(14): 2600-2608.

(下转第 495 页)

型”为主。各研究结果不同可能原因是研究样本的年龄、评价方法、样本量不尽相同,且存在家长的主观因素影响。本研究发现,ASD 组儿童中“易养型”比例较低,而“偏易养型”“偏难养型”“难养型”“启动缓慢型”比较普遍。姚丽等^[12]通过气质问卷对就诊的可疑 ASD 儿童进行测定,成功发现早期 ASD 儿童,表明 ASD 儿童临床表现与气质高度相关。静进^[13]研究结果显示,2~5 岁是大多 ASD 儿童的治疗矫治成效最为显著时期,婴幼儿优良气质发展的促进可以通过早期教育来得以解决。马欣荣等^[14]也在研究中得出 ASD 儿童的某些气质维度与其举止表现之间存在相关的结论。儿童的气质类型与其临床表现存在高度相关,因此可通过气质类型评估为 ASD 早期发现提供线索。

3.3 研究中存在的局限性 本次研究样本量较小,年龄范围有限。因前来就诊的 ASD 儿童多处于 3~7 岁阶段,8~12 岁的儿童较少。因此需要进一步扩大样本量,加大对学龄期 ASD 儿童气质问卷的调查和采集,并对 8~12 岁等其他年龄段儿童的气质特点进行比较分析。本次研究是基于哈尔滨市 3~7 岁阶段已经明确诊断的 ASD 儿童及正常儿童所进行的横断面调查,因此,不能获得研究样本早期的气质特征。在将来的研究中可建立随访队列,以追踪了解孤独症儿童早期的气质特征及其与对照的差异。

综上所述,ASD 儿童气质类型与正常儿童存在明显差别,且儿童气质特征可能会影响 ASD 儿童的病程进展与康复治疗效果。因此,尽早开展 ASD 儿童与正常儿童气质维度的比较分析,不仅有助于早期发现 ASD 儿童,也可为 ASD 儿童制定个性化治疗方案提供科学依据。

4 参考文献

- [1] LAURITSEN M B. Autism spectram disorders [J]. Eur Child Adoles Psychiatry, 2013, 22(1): 37-42.
- [2] 邢艺沛,邹小兵,邓红珠,等.孤独症谱系障碍幼儿的气质特点研究[J].中国儿童保健杂志,2015,23(9):901-902.
- [3] American Psychiatric Association. The diagnostic and statistical manual of mental disorders [M]. 5th. Washington, DC: American Psychiatric Publishing Inc, 2013: 50-59.
- [4] 杨玉凤. 儿童发育行为心理评定量表 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 302.
- [5] 江瑞芬,刘文龙,赵旭. 孤独症儿童气质特征分析 [J]. 中国儿童保健杂志, 2011, 19(10): 938-940.
- [6] 马欣荣,方建群. 孤独症儿童气质特征及颜色偏好实验研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2012.
- [7] 姚丽,贾美香,陈英才. 0 至 7 岁孤独症 52 例气质分析 [J]. 中国现代儿科杂志, 2009, 6(3): 158-159.
- [8] BROCK M E, FREULER A, BARANEK G T, et al. Temperament and sensory features of children with autism [J]. J Autism Dev Dis, 2012, 42(11): 2271-2284.
- [9] ROSARIO M D, GILLESPIE-LYNCH K, JOHNSON S, et al. Parent-reported temperament trajectories among infant siblings of children with autism [J]. J Autism Dev Dis, 2014, 44(2): 381-393.
- [10] GOLDING J, STEER C D, EMOND A M. The early temperament of children with the Autistic Spectrum Disorder (ASD) [C]//International Meeting for Autism Research, 2008.
- [11] 李建华,蔡兰云,邹时朴. 儿童孤独症 268 例病因分析 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, 50(5): 100-104.
- [12] 姚丽,贾美香,黄慧桃,等. 孤独症早期发现的研究 [J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(18): 2, 5.
- [13] 静进. 儿童孤独症的早期诊断和早期干预治疗 [J]. 中国儿童保健杂志, 2007, 15(5): 453-454.
- [14] 马欣荣,方建群. 孤独症儿童气质特征与其举止表现的相关研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(1): 30-34.

收稿日期: 2018-09-18; 修回日期: 2018-11-09

(上接第 492 页)

- [8] LORD C, RISI S, LAMBRECHT L, et al. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism [J]. J Autism Dev Disord, 2000, 30(3): 205-223.
- [9] DE BILDT A, OOSTERLING I J, VAN LANG N D, et al. How to use the ADI-R for classifying autism spectrum disorders? Psychometric properties of criteria from the literature in 1,204 Dutch children [J]. J Autism Dev Disord, 2013, 43(10): 2280-2294.
- [10] JASIEN J M, BONNER M, D' ALLI R, et al. Cognitive, adaptive, and behavioral profiles and management of alternating hemiplegia of childhood [J]. Dev Med Child Neurol, 2018. DOI: 10.1111/dmcn.14077.
- [11] AL-FARSI Y M, WALY M I, DETH R C, et al. Low folate and vitamin B₁₂ nourishment is common in omani children with newly diagnosed autism [J]. Nutrition, 2013, 29(3): 537-541.
- [12] 孙彩虹,李楠楠,赵栋,等. 孤独症儿童膳食及营养状况的对比研究 [J]. 中国儿童保健杂志, 2013, 21(6): 581-583.
- [13] LANGAN R C, GOODBRED A J. Vitamin B₁₂ deficiency recognition and management [J]. Am Fam Physician, 2017, 96(6): 384-389.
- [14] BOUSSELAMTI A, EL HASBAOUI B, ECHAHDHI H, et al. Psychomotor regression due to vitamin B₁₂ deficiency [J]. Pan Afr Med J, 2018,

30; 152. DOI: 10.11604/pamj.2018.30.152.12046.

- [15] OUSSALAH A, LEVY J, FILHINE-TRESARRIEU P, et al. Association of TCN2 rs1801198 c.776G>C polymorphism with markers of one-carbon metabolism and related diseases: a systematic review and meta-analysis of genetic association studies [J]. Am J Clin Nutr, 2017, 106(4): 1142-1156.
- [16] MITCHELL E S, CONUS N, KAPUT J B. vitamin polymorphisms and behavior: evidence of associations with neurodevelopment, depression, schizophrenia, bipolar disorder and cognitive decline [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2014, 47: 307-320. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2014.08.006.
- [17] HAGHIRI R, MASHAYEKHI F, BIDABADI E, et al. Analysis of methionine synthase (rs1805087) gene polymorphism in autism patients in Northern Iran [J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2016, 76(4): 318-323.
- [18] ZHANG Z, YU L, LI S, et al. Association study of polymorphisms in genes relevant to vitamin B₁₂ and folate metabolism with childhood autism spectrum disorder in a han chinese population [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 370-376.

收稿日期: 2018-09-18; 修回日期: 2018-11-10