

本文引文格式:黄宏山,韦春丽,易雪丽,等.MTHFR基因遗传变异与缺血性脑卒中易感性的相关性[J].右江民族医学院学报,2022,44(4):498-503.

【论著与临床报道】

MTHFR基因遗传变异与缺血性脑卒中易感性的相关性

黄宏山¹, 韦春丽², 易雪丽³, 韦贵将³

(1. 广西百色市人民医院,右江民族医学院附属西南医院超声医学科,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院神经内科,广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院附属医院检验科,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因遗传变异与缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)易感性的关系。方法 采用单碱基延伸PCR技术,对各200例IS患者和对照者的MTHFR基因遗传变异位点rs9651118和rs1801133进行分型,比较rs9651118和rs1801133基因型和等位基因型频率在IS患者和对照者中的分布差异。结果 在IS患者和对照者中,rs9651118基因型和等位基因型频率分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。但是,相比rs1801133 CC基因型,TT基因型或者TT+CT基因型显著增加IS罹患风险($OR = 2.51, 95\% CI : 1.14 \sim 5.55, P = 0.023$; $OR = 2.40, 95\% CI : 1.10 \sim 5.23, P = 0.027$)。此外,相比C等位基因型,T等位基因型亦显著增加IS罹患风险($OR = 1.44, 95\% CI : 1.04 \sim 2.00, P = 0.028$)。结论 MTHFR基因遗传变异位点rs1801133可能与IS易感性相关,该结果可能对IS风险预测具有一定的指导作用。

关键词:缺血性脑卒中;亚甲基四氢叶酸还原酶;基因;变异体

中图分类号:R743

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2022)04-0498-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.04.005

Correlation between the MTHFR genetic variation and susceptibility to ischemic stroke

Huang Hongshan¹, Wei Chunli², Yi Xueli³, Wei Guijiang³

(1. Department of Ultrasound Medicine, People's Hospital of Baise, Southwest Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 3. Department of Medical Laboratory, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To explore the relation between the genetic variation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and susceptibility to ischemic stroke (IS). **Methods** PCR with single base extension was adopted to detect the genotypes of variant loci rs9651118 and rs1801133 of the MTHFR gene among 200 IS patients and 200 controls. This study moved on to compare the distribution differences of genotype and allele frequencies of rs9651118 and rs1801133 between IS patients and controls. **Results** There was no significant difference in the frequency distribution of genotypes and alleles of the loci rs9651118 ($P > 0.05$). However, compared with the rs1801133 CC genotype, the TT genotype or TT+CT genotype significantly increased the risk of IS ($OR = 2.51, 95\% CI : 1.14 \sim 5.55, P = 0.023$; $OR = 2.40, 95\% CI : 1.10 \sim 5.23, P = 0.027$). In addition, compared with the C allele, the T allele also significantly increased the risk of IS ($OR = 1.44, 95\% CI : 1.04 \sim 2.00, P = 0.028$). **Conclusion** The genetically variant loci rs1801133 of the MTHFR

基金项目:广西自然科学基金项目(2019JJB140034);百色市科学研究与技术开发计划项目(百科20193121)

第一作者简介:黄宏山(1989-),本科,主治医师,研究方向:缺血性脑卒中的分子机制研究,E-mail:1290554578@qq.com

通讯作者简介:韦贵将(1985-),男,博士,副主任技师,硕士研究生导师,研究方向:缺血性脑卒中的分子机制研究,E-mail:252787634@qq.com

gene may be related to the susceptibility to IS, and the results may provide some guidance for the prediction of IS risk.

Key words: ischemic stroke; MTHFR; gene; variants

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是世界上常见的脑血管疾病^[1]。根据最近发布的流行病学调查结果显示,在过去 10 年里我国 IS 发病率和患病率一直呈上升的趋势^[2-3],IS 已成为威胁广大人民群众健康的重要疾病,IS 病因学研究亦成为医学界一项紧迫而重要的任务。亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) 是人体内同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 代谢的一个关键酶,它对血液中 Hcy 维持在一个正常水平上具有重要作用^[4]。近年来研究发现, MTHFR 基因参与了 IS 的发生,其遗传变异与 IS 易感性的关系也成为研究的热点^[5-6]。由于基因遗传变异在不同人群中分布有差别,因此不同人群疾病易感性亦有差别^[7]。截止目前, MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 和 rs1801133 与 IS 易感性的相关性少有充分研究。因此,本研究对 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 和 rs1801133 与 IS 易感性的相关性展开研究。

1 对象与方法

1.1 对象 病例组为 2018 年 1 月 1 日—2018 年 6 月 30 日到右江民族医学院附属医院神经内科住院的 200 例 IS 患者。每例 IS 患者均由两名经验丰富的右江民族医学院附属医院神经内科医生根据临床症状、磁共振成像、计算机断层扫描和其它神经血管系统检查诊断。本研究病例组排除复发性 IS、出血性脑卒中、心源性脑血管疾病、肿瘤性、外伤性、感染性及脑血

管畸形等其他原因导致的脑卒中和原因不明性的脑卒中。病例组男 131 例,女 69 例,年龄 49~88 岁,平均年龄 (61.45 ± 9.07) 岁。对照组为 2018 年 1 月 1 日—2018 年 6 月 30 日到右江民族医学院附属医院进行常规体检的 200 名健康者。根据体检过程中的临床实验室及影像学检查结果和对体检者的问询,本研究对照组排除重大疾病史、脑卒中史、癌症和遗传性、自身免疫性、神经性或心源性疾病等。对照组男 130 例,女 70 例,年龄 46~80 岁,平均年龄 (60.41 ± 6.70) 岁。本研究已获得右江民族医学院附属医院伦理委员会批准,所有病例和对照均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 PCR 扩增 抽取 2 mL 病例或对照者静脉血,提取血细胞基因组 DNA (Transgen 公司) 后 -80 °C 保存。从 National Center for Biotechnology Information 上下载 MTHFR 基因组序列,在 Primer Premier 5 软件 (Premier Biosoft 公司) 上设计 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 扩增和延伸引物,再由上海生工公司合成。引物信息如表 1 所示。20 μL 的 PCR 反应体系: 2.0 μL 的 10×PCR 反应缓冲液, 2.0 μL 的 0.3 mmol/L dNTPs, 各 1.0 μL 的 10 μmol/L 上下游引物, 1.0 U 的 HotStar Taq DNA 聚合酶 (Qiagen 公司), 50 ng 基因组 DNA。PCR 反应程序: 94 °C 15 min; 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 20 s, 共 35 个循环; 72 °C 10 min。

表 1 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 扩增和延伸引物

位点	引物	序列
rs9651118	上游引物	5'-GCAGCTGGTCCACAGAAGT-3'
	下游引物	5'-TCGTTTCGGAAGTGGCCTT-3'
	延伸引物	5'-TTTTTTTTTTCATGATGTCTTAAGTCACTGAGATA-3'
rs1801133	上游引物	5'-CCTCACCTGGATGGGAAAGA-3'
	下游引物	5'-TGTGCTGTGCTGTTGGAAGG-3'
	延伸引物	5'-TTTTTTTTTTTTTTTGTAGAAGGTGTCTGCGGGAG-3'

1.2.2 基因分型 使用 MagS 磁珠凝胶回收试剂盒 (百奥莱博公司) 纯化 PCR 产物, 再进行 SNaPshot 单碱基延伸反应 (Applied Biosystems 公司)。反应程序: 96 °C 2min; 96 °C 10 s, 50 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共 25 个循环; 4 °C forever。延伸产物在毛细管电泳仪 (Applied Biosystems 公司) 上样, 最后使用 Gene Mapper (Applied Biosystems 公司) 解析电泳结果。

1.2.3 统计学方法 使用 SPSS 17.0 软件包进行数

据统计分析。采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡检测 MTHFR 基因遗传变异位点的群体代表性; 千人基因组计划数据从 Ensembl 数据库 (<http://asia.ensembl.org/index.html>) 获取; 使用 *t* 检验对比年龄分布差异, 使用 χ^2 检验对比性别分布差异; 使用 Logistic 回归分析 MTHFR 基因遗传变异位点基因型和等位基因型分布频率与 IS 易感性的相关性, 使用比值比 (Odds Ratio, OR) 及其 95% 置信区间 (Confidence Interval,

CI)表示 IS 发生的相对风险度,同时使用性别和年龄校正 P 值。检验水准=0.05。

2 结果

2.1 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 基因型检测结果 本研究中 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 基因型检测结果显示,MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 存在 3 种基因型,分别为 TT、TC 和 CC,Sanger 测序结果如图 1 所示。位点 rs1801133 存在 3 种基因型,分别为 CC、CT 和 TT,Sanger 测序结果如图 2 所示。

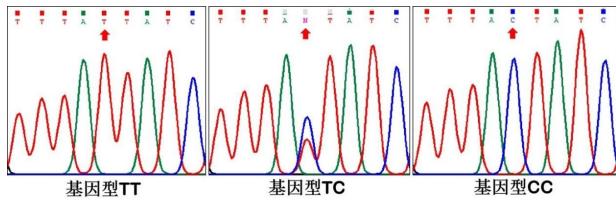


图 1 MTHFR 基因 SNP rs9651118 的 Sanger 测序结果

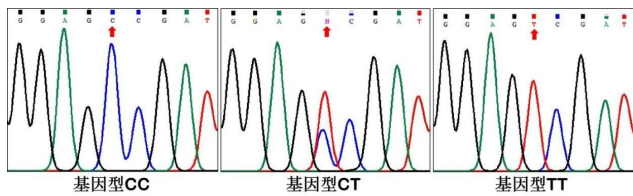


图 2 MTHFR 基因 SNP rs1801133 的 Sanger 测序结果

2.2 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 在不同地区人群中的分布对比 本研究中 IS 组和对照组的年龄和性别差异无统计学意义($P > 0.05$),同时两组研究对象的 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,具有良好的群体代表性。不同地区人群 rs9651118 及 rs1801133 基因型和等位基因型频率的比较结果分别如表 2 和表 3 所示。本研究 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 TT、TC 和 CC 3 种基因型在对照组中的频率分别为 34.00%、47.00%和 19.00%,T、C 等位基因型在对照组中的频率分别为 57.50%、42.50%,本研究人群与千人基因组计划中的越南胡志明及中国华南地区人群的频率分布差异有统计学意义($P > 0.05$),但是与中国北京、尼日利亚埃多、西班牙伊比利亚及斯里兰卡泰米尔地区人群的频率分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。本研究 MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 CC、CT 和 TT 3 种基因型在对照组中的频率分别为 63.00%、32.00%和 5.00%,C、T 等位基因型在对照组中的频率分别为 79.00%、21.00%,本研究人群与千人基因组计划中的越南胡志明及中国华南地区人群的频率分布差异无统计学意义($P > 0.05$),但是与中国北京、尼日利亚埃多、西班牙伊比利亚及斯里兰卡泰米尔地区人群的频率分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 不同地区人群 rs9651118 基因型和等位基因型频率的比较

人群	n	基因型/%			χ^2	P	等位基因型/%		χ^2	P
		TT	TC	CC			T	C		
本研究	200	68(34.00)	94(47.00)	38(19.00)			230(57.50)	170(42.50)		
越南胡志明	99	33(33.33)	45(45.45)	21(21.21)	0.207	0.902	111(56.06)	87(43.94)	0.112	0.792
中国华南地区	105	31(29.52)	50(47.62)	24(22.86)	0.935	0.627	112(53.33)	98(46.67)	0.971	0.345
中国北京	103	54(52.43)	38(36.89)	11(10.68)	10.238	0.006	146(70.87)	60(29.13)	10.327	0.001
尼日利亚埃多	99	99(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	116.986	<0.001	198(100.00)	0(0.00)	117.571	<0.001
西班牙伊比利亚	107	82(76.64)	24(22.43)	1(0.93)	54.790	<0.001	188(87.85)	26(12.15)	59.094	<0.001
斯里兰卡泰米尔	102	49(48.04)	41(40.20)	12(11.76)	6.272	0.043	139(68.14)	65(31.86)	6.431	0.013

注:表内计数资料数据用[n(%)]表示。

表 3 不同地区人群 rs1801133 基因型和等位基因型频率的比较

人群	n	基因型/%			χ^2	P	等位基因型/%		χ^2	P
		TT	TC	CC			T	C		
本研究	200	126(63.00)	64(32.00)	10(5.00)			316(79.00)	84(21.00)		
越南胡志明	99	65(65.66)	30(30.30)	4(4.04)	0.264	0.876	160(80.81)	38(19.19)	0.267	0.667
中国华南地区	105	54(51.43)	42(40.00)	9(8.57)	4.240	0.120	150(71.43)	60(28.57)	4.377	0.054
中国北京	103	30(29.13)	50(48.54)	23(22.33)	38.846	<0.001	110(53.40)	96(46.60)	46.684	<0.001
尼日利亚埃多	99	83(83.84)	16(16.16)	0(0.00)	15.272	<0.001	182(91.92)	16(8.08)	15.873	<0.001
西班牙伊比利亚	107	30(28.04)	59(55.14)	18(16.82)	36.767	<0.001	119(55.61)	95(44.39)	36.936	<0.001
斯里兰卡泰米尔	102	85(83.33)	17(16.67)	0(0.00)	15.019	0.001	187(91.67)	17(8.33)	15.565	<0.001

注:表内计数资料数据用[n(%)]表示。

2.3 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 与 IS 易感性的相关性 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 与 IS 易感性的相关性分析结果如表 4 所示。MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 TT、TC 和 CC 3 种基因型在 IS 组中的频率分别为 34.50%、45.00% 和 20.50%，在对照组中的频率分别为 34.00%、47.00% 和 19.00%。在共显性模式中，相比 rs9651118 TT 基因型，TC 和 CC 基因型对本研究人群罹患 IS 风险的影响差异无统计学意义 ($OR = 0.92, 95\% CI : 0.59 \sim 1.44, P = 0.726$; $OR = 1.06, 95\% CI : 0.61 \sim 1.85, P = 0.828$)。在隐性模式中，相比 TT + TC 基因型，CC 基因型对 IS 罹患风险的影响差异无统计学意义 ($OR = 1.12, 95\% CI : 0.68 \sim 1.84, P = 0.653$)。在显性模式中，相比 TT 基因型，CC + TC 基因型对 IS 罹患风险的影响差异无统计学意义 ($OR = 0.97, 95\% CI : 0.64 \sim 1.47, P = 0.880$)。相比 T 等位基因型，C 等位基因型对 IS 罹患

风险的影响亦差异无统计学意义 ($OR = 1.01, 95\% CI : 0.76 \sim 1.33, P = 0.960$)。MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 CC、CT 和 TT 3 种基因型在 IS 组中的频率分别为 56.00%、33.00% 和 11.00%，在对照组中的频率分别为 63.00%、32.00% 和 5.00%。在共显性模式中，相比 rs1801133 CC 基因型，CT 基因型对本研究人群罹患 IS 风险的影响差异无统计学意义 ($OR = 1.16, 95\% CI : 0.76 \sim 1.78, P = 0.493$)，但是 TT 基因型则显著增加 IS 罹患风险 ($OR = 2.51, 95\% CI : 1.14 \sim 5.55, P = 0.023$)。在隐性模式中，相比 CC + CT 基因型，TT 基因型显著增加 IS 罹患风险 ($OR = 2.40, 95\% CI : 1.10 \sim 5.23, P = 0.027$)。在显性模式中，相比 CC 基因型，TT + CT 基因型对 IS 罹患风险的影响差异无统计学意义 ($OR = 2.18, 95\% CI : 0.95 \sim 4.97, P = 0.064$)。相比 C 等位基因型，T 等位基因型亦显著增加 IS 罹患风险 ($OR = 1.44, 95\% CI : 1.04 \sim 2.00, P = 0.028$)。

表 4 MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 及 rs1801133 与 IS 易感性的相关性

位点	基因型/等位基因	对照组 ($n = 200$)	IS 组 ($n = 200$)	OR (95% CI) [#]	P [#]	
rs9651118	共显性模式	TT	68(34.00)	69(34.50)	1.00	
		TC	94(47.00)	90(45.00)	0.92(0.59~1.44)	0.726
		CC	38(19.00)	41(20.50)	1.06(0.61~1.85)	0.828
	隐性模式	CC vs. TT+TC			1.12(0.68~1.84)	0.653
	显性模式	CC+TC vs. TT			0.97(0.64~1.47)	0.880
	等位基因	T	230(57.50)	228(57.00)	1.00	
	C	170(42.50)	172(43.00)	1.01(0.76~1.33)	0.960	
rs1801133	共显性模式	CC	126(63.00)	112(56.00)	1.00	
		CT	64(32.00)	66(33.00)	1.16(0.76~1.78)	0.493
		TT	10(5.00)	22(11.00)	2.51(1.14~5.55)	0.023
	隐性模式	TT vs. CC+CT			2.40(1.10~5.23)	0.027
	显性模式	TT+CT vs. CC			2.18(0.95~4.97)	0.064
	等位基因	C	316(79.00)	290(72.50)	1.00	
	T	84(21.00)	110(27.50)	1.44(1.04~2.00)	0.028	

注：[#]经性别和年龄校正。

3 讨论

IS 是指由于脑部血管堵塞或者狭窄导致脑供血不足，神经细胞大量死亡进而致死或者致残的疾病，它是世界上常见的脑血管疾病，在许多国家中是致死致残的重要因素^[1]。在过去 10 年里，我国 IS 发病率和患病率一直呈上升的趋势，其中发病率和患病率分别由 2007 年的 119/100 000 和 1053/100 000 上升至 2017 年的 156/100 000 和 1470/100 000，IS 已成为威胁广大人民群众健康的重要疾病，IS 病因学研究亦成为医

学界一项紧迫而重要的任务^[2-3]。Hcy 是人体内甲硫氨酸代谢的产物，过往研究显示，血液中上升的 Hcy 是 LAAIS 发生的重要危险因素，在临床调查研究中，Hcy 上升人群罹患 LAAIS 的风险显著大于一般人群^[8]。MTHFR 是人体内 Hcy 代谢的一个关键酶，它可以将 5,10-亚甲基四氢叶酸转换为 5-甲基四氢叶酸，后者和 Hcy 在甲硫氨酸合成酶和维生素 B₁₂ 的催化作用下转变为甲硫氨酸，从而使 Hcy 保持在一个正常的水平^[4]。近年来研究发现，MTHFR 基因参与了 IS 的

发生,其遗传变异与 IS 易感性的关系也成为研究的热点^[5-6]。由于基因遗传变异在不同人群中分布有差别,因此不同人群疾病易感性亦有差别^[7]。截止目前,MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 和 rs1801133 与 IS 易感性的相关性少有充分研究。

在本研究中,通过检测各 200 例的 IS 患者和对照者的 2 个 MTHFR 基因遗传变异位点,发现 MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 与 IS 易感性具有相关性。相比 MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 CC 基因型,TT 基因型或者 TT+CT 基因型显著增加 IS 罹患风险;相比 C 等位基因型,T 等位基因型亦显著增加 IS 罹患风险。在最近一项由 MAZDEH M 等^[5]开展的病例对照研究中,通过对来自伊朗的 318 例 IS 患者和 400 例对照者的 rs1801133 位点进行检测分析后发现,rs1801133 TT 基因型或者 TT+CT 基因型相比 CC 基因型显著增加伊朗人群罹患 IS 的风险,T 等位基因型相比 C 等位基因型亦显著增加伊朗人群罹患 IS 的风险。M'BAREK L 等^[6]通过对来自突尼斯的 161 例 IS 患者和 114 例对照者的 rs1801133 位点进行检测分析后发现了相似的结果。这两项在不同地区人群中开展的 rs1801133 与 IS 罹患风险相关性研究中得到的研究结果,与本研究的研究结果形成了相互验证。National Center for Biotechnology Information 中的信息 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) 显示,rs1801133 位于 MTHFR 基因的蛋白编码区,当 rs1801133 位点从 C 变成 T 时,其编码的氨基酸从丙氨酸变成缬氨酸,过往研究显示,氨基酸的改变可能会改变蛋白的空间结构,进而影响其功能^[9-10]。Hcy 是 IS 发生的一个重要因素,血液中高浓度的 Hcy 可以诱导血管内皮细胞的凋亡,导致动脉粥样硬化,促进 IS 的发生^[11-12]。如前所述,Hcy 代谢同时也与 MTHFR 酶活性紧密相关^[4]。研究表明,MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 与 Hcy 血液水平显著相关。ZHANG S Y 等^[13]通过分析 875 例冠心病患者和 956 例对照者的 rs1801133 基因型和等位基因型分布情况时发现,rs1801133 TT 基因型个体血液中的 Hcy 水平显著高于 CC 基因型个体。BAGHERI HAMIDI A 等^[14]在一项关于白癜风发病与 rs1801133 基因型分布关系的研究中也得到了类似的结果。而 DU X X 等^[15]则在分析 200 例 IS 患者的 rs1801133 基因型和等位基因型分布情况时发现,rs1801133 TT 基因型 IS 患者血液中的 Hcy 水平亦显著高于 CC 基因型 IS 患者。由此可以初步推测,MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 基因型从 C 到 T 的改变可能影响了 MTHFR 蛋白的结构和活性,进而升高了血液中 Hcy 表达水平,最终促进了 IS 的发生。

在本研究中,MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 基因型和等位基因型频率在本研究 IS 患者和对照者中的分布差异无统计学意义。在一项探讨 rs9651118 与婴儿脑瘫易感性相关性的研究中,HOU R Y 等^[16]调查了 105 例脑瘫婴儿和 114 例对照者 rs9651118 位点基因型和分布情况,结果显示,CC 基因型相比 TT 基因型,C 等位基因型相比 T 等位基因型显著增加婴儿脑瘫发生的概率。LIN V C 等^[17]则在一项关于 MTHFR 基因遗传变异在前列腺癌预后中作用的研究中发现,rs9651118 CC 基因型患者相比 TT 基因型患者 5 年生存率显著上升,癌旁组织中 MTHFR 表达水平相较癌组织显著下降,而 rs9651118 CC 基因型患者血液中 MTHFR 表达水平相较 TT 基因型患者也显著下降,rs9651118 CC 基因型可能通过下调 MTHFR 表达水平,延长了前列腺患者的生存时间。在本研究中,MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 与本研究人群 IS 易感性无显著相关性。

综上所述,MTHFR 基因遗传变异位点 rs9651118 与 IS 易感性无显著相关性,但是 rs1801133 与 IS 易感性显著相关。相比 rs1801133 CC 基因型,TT 基因型或者 TT+CT 基因型显著增加 IS 罹患风险;相比 C 等位基因型,T 等位基因型亦显著增加 IS 罹患风险。由于基因遗传变异在不同人群中分布有差别,因此本研究的研究结果有待在世界上其它地区人群中开展的研究结果进一步验证。此外,MTHFR 基因遗传变异位点 rs1801133 影响 IS 易感性分子机制目前尚未阐明,有待后续研究中进一步阐明。

参考文献:

- [1] FEIGIN V, BRAININ M, NORRVING B, et al. World stroke organization(WSO): global stroke fact sheet 2022 [J]. *Int J Stroke*, 2022, 17(1): 18-29.
- [2] WANG Y J, LI Z X, GU H Q, et al. China Stroke Statistics: an update on the 2019 report from the national center for healthcare quality management in neurological diseases, China national clinical research center for neurological diseases, the chinese stroke association, national center for chronic and non-communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention and Institute for Global Neuroscience and Stroke Collaborations[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2022. Online ahead of print. doi:10.1136/svn-2021-001374.
- [3] 马林,巢宝华,曹雷,等. 2007—2017 年中国脑卒中流行趋势及特征分析[J]. *中华脑血管病杂志(电子版)*, 2020, 14(5): 253-258.
- [4] PODDAR R. Hyperhomocysteinemia is an emerging comorbidity in ischemic stroke[J]. *Exp Neurol*, 2021, 336(1): 113541.

- [5] MAZDEH M, KHAZAIE M, OMRANI D, et al. Association between *methylene tetrahydrofolate reductase* polymorphisms and risk of ischemic stroke[J]. *Int J Neurosci*, 2021, 131(1): 44-48.
- [6] M'BAREK L, SAKKA S, MEGHDICHE F, et al. MTHFR (C677T, A1298C), FV Leiden polymorphisms, and the prothrombin G20210A mutation in arterial ischemic stroke among young tunisian adults[J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36(3): 421-428.
- [7] 杨丽娟, 邓高, 陆壮念, 等. 广西壮族儿童 ADAM33 基因 rs511898, rs44707 位点多态性研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(4): 445-449.
- [8] ZHANG H, HUANG J B, ZHOU Y J, et al. Association of homocysteine level with adverse outcomes in patients with acute ischemic stroke: a meta-analysis[J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(36): 7583-7591.
- [9] IQBAL S, PÉREZ-PALMA E, JESPERSEN J B, et al. Comprehensive characterization of amino acid positions in protein structures reveals molecular effect of missense variants[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(45): 28201-28211.
- [10] FERNANDES V C, GOLUBEVA V A, DI PIETRO G, et al. Impact of amino acid substitutions at secondary structures in the BRCT domains of the tumor suppressor BRCA1: Implications for clinical annotation[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(15): 5980-5992.
- [11] KELLER A C, KLAWITTER J, HILDRETH K L, et al. Elevated plasma homocysteine and cysteine are associated with endothelial dysfunction across menopausal stages in healthy women[J]. *J Appl Physiol*, 2019, 126(6): 1533-1540.
- [12] BALINT B, JEPCHUMBA V K, GUÉANT J L, et al. Mechanisms of homocysteine-induced damage to the endothelial, medial and adventitial layers of the arterial wall[J]. *Biochimie*, 2020, 173: 100-106.
- [13] ZHANG S Y, XUAN C, ZHANG X C, et al. Association between MTHFR gene common variants, serum homocysteine, and risk of early-onset coronary artery disease: a case-control study[J]. *Biochem Genet*, 2020, 58(2): 245-256.
- [14] BAGHERI HAMIDI A, NAMAZI N, MOHAMMAD AMOLI M, et al. Association of MTHFR C677T polymorphism with elevated homocysteine level and disease development in vitiligo[J]. *Int J Immunogenet*, 2020, 47(4): 342-350.
- [15] DU X X, XIAO L, SUN R, et al. A prospective cohort study of MTHFR C677T gene polymorphism and its influence on the therapeutic effect of homocysteine in stroke patients with hyperhomocysteinemia[J]. *BMC Neurol*, 2020, 20(1): e128.
- [16] HOU R Y, REN X Y, WANG J, et al. TNF- α and MTHFR polymorphisms associated with cerebral palsy in Chinese infants[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(10): 6653-6658.
- [17] LIN V C, LU T L, YIN H L, et al. Prognostic relevance of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms for prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 1996.

收稿日期: 2022-04-18; 修回日期: 2022-05-25

(上接第 497 页)

- [17] VARRI M, NISKANEN L, TUOMAINEN T, et al. Association of adipokines and estradiol with bone and carotid calcifications in postmenopausal women[J]. *Climacteric*, 2016, 19(2): 204-211.
- [18] LIN Y Y, WU S C, LIU B H, et al. Adiponectin receptor 1 involves in regulating bone formation and osteoblast differentiation[J]. *FASEB*, 2012, 26(S1).
- [19] WANG Q P, LI X P, WANG M, et al. Adiponectin exerts its negative effect on bone metabolism via OPG/RANKL pathway: an in vivo study[J]. *Endocrine*, 2014, 47(3): 845-853.
- [20] CHINA S P, PAL S, CHATTOPADHYAY S, et al. Globular adiponectin reverses osteo-sarcopenia and altered body composition in ovariectomized rats[J]. *Bone*, 2017, 105: 75-86.
- [21] YAMAUCHI T, KAMON J, ITO Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects[J]. *Nature*, 2003, 423(6941): 762-769.
- [22] ALFAQIH M A, AL-HAWAMDEH A, AMARIN Z O, et al. Single Nucleotide Polymorphism in the ADIPOQ Gene Modifies Adiponectin Levels and Glycemic Control in Type Two Diabetes Mellitus Patients[J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 6632442.
- [23] 王金花, 黄秀峰, 周庆辉, 等. 广西百色地区壮族妇女脂联素基因单核苷酸多态性与骨密度的关系[J]. *解剖学报*, 2012, 43(1): 109-113.
- [24] ZHAO Y L, ZHANG T P, WU J, et al. Association of adiponectin and adiponectin receptor gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in a Chinese population[J]. *Postgrad Med J*, 2020, 96(1133): 149-155.
- [25] SHINODA Y, YAMAGUCHI M, OGATA N, et al. Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99(1): 196-208.

收稿日期: 2022-06-20; 修回日期: 2022-07-08