Winter (2024) 12(47): 29-39
DOI: 10.30473/eab.2024.69812.1931
Received: 24 Nov 2023 Accepted: 12 Mar 2024

Experimental Animal Biology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of rs2016520 Polymorphism in PPARD Gene and its Association with Serum Low Density Lipoprotein (LDL) in Iranian Population

Hanieh Heydarzadeh[1], Vida Hojati[1*], Farid Ebnerasuly[2*]

[1]Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
[2]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Correspondence
Vida Hojati, Farid Ebnerasuly
Email: vida.hojati@iau.ac.ir
f_ebnerasuly@yahoo.com

How to cite
Heydarzadeh, H., Hojati, V., & Ebnerasuly, F. (2024). Evaluation of rs2016520 Polymorphism in PPARD Gene and its Association with Serum Low Density Lipoprotein (LDL) in Iranian Population. *Experimental Animal Biology, 12*(47), 29-39.

ABSTRACT
Blood fat is a global and increasing problem in all countries, including Iran, and one of the most important threats to society's health. High blood fat as a multifactorial problem is under the influence of various factors, especially metabolic and genetic factors. The aim of this study is to investigate the rs2016520 polymorphism in the PPARD gene and its relationship with the level of low-density lipoprotein (LDL). Blood sampling from 137 people, including 83 Iranian women and 54 men, including 79 healthy people or controls (normal LDL) (57.7%) and 58 people with LDL above 130 (42.3%) in the age range of 18 to 60 years. It was done after obtaining consent. DNA was extracted by a ready kit. The concentration and quality of isolated DNA were measured by spectrophotometry and agarose gel. Genotypes were identified by PCR-RFLP method. 6% frequency of genotypes in the group with normal LDL: 3.8% for CC, 36.7% for CT and 59.5% for TT genotype and in the group with LDL higher than 130: 12.1% for CC, 37.9% for CT and it was 0.50% for TT genotype. The difference in the frequency of genotypes between the two groups with normal LDL and the group with LDL above 130 was not significant ($p > 0.05$). 2.56% of the samples had a BMI lower than 25 and 43.8% had a BMI higher than 25. The results of the present study did not show a significant relationship between rs2016520 polymorphism and LDL level.

KEYWORDS
Polymorphism, Blood lipids, PPARD gene, Low density lipoprotein, rs2016520.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

سال دوازدهم، شماره سوم، پیاپی چهل و هفتم، زمستان ۱۴۰۲ (۳۹-۲۹)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۲

DOI: 10.30473/eab.2024.69812.1931

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

بررسی پلی‌مورفیسم rs2016520 موجود در ژن PPARD و ارتباط آن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در سرم خون جمعیت ایرانی

هانیه حیدرزاده[۱]، ویدا حجتی[۱*]، فرید ابن رسولی[۲*]

[۱]گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

نویسنده مسئول:

ویدا حجتی، فرید ابن رسولی

رایانامه: v.hojati@iau.ac.ir

f_ebnerasuly@yahoo.com

چکیده

چربی خون یک مشکل جهانی و رو به افزایش در همه کشورها از جمله ایران و یکی از تهدیدهای مهم برای سلامت جامعه می‌باشد. چربی خون بالا به‌عنوان یک مشکل چند عاملی تحت تأثیر مجموعه عوامل مختلف، به‌ویژه عوامل متابولیکی و ژنتیکی قرار دارد. هدف از این مطالعه، بررسی پلی‌مورفیسم rs2016520 در ژن PPARD و ارتباط آن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) می‌باشد. خون‌گیری از ۱۳۷ فرد شامل ۸۳ زن و ۵۴ مرد ایرانی شامل ۷۹ فرد سالم یا شاهد (LDL نرمال) (۵۷/۷ درصد) و ۵۸ فرد با LDL بالاتر از ۱۳۰ (۴۲/۳ درصد) در محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال با گرفتن رضایت‌نامه، انجام شد. DNA توسط کیت آماده استخراج شد. غلظت و کیفیت DNA جداشده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری و ژل آگارز سنجیده شد. شناسایی ژنوتیپ‌ها با روش PCR-RFLP انجام شد. میزان ۶ درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه با LDL نرمال: ۳/۸ درصد برای CC، ۳۶/۷ درصد برای CT و ۵۹/۵ درصد برای ژنوتیپ TT و در گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰: ۱۲/۱ درصد برای CC، ۳۷/۹ درصد برای CT و ۵۰/۰ درصد برای ژنوتیپ TT بود. اختلاف فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰ معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). ۲/۵۶ درصد از نمونه‌ها، BMI پایین‌تر از ۲۵ و ۴۳/۸ درصد، BMI بالاتر از ۲۵ داشتند. نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs2016520 و سطح LDL نشان نداد.

واژه‌های کلیدی

پلی‌مورفیسم، چربی خون، ژن PPARD، لیپوپروتئین با چگالی پایین، rs2016520.

استناد به این مقاله:

حیدرزاده، هانیه؛ حجتی، ویدا و ابن رسولی، فرید (۱۴۰۲). بررسی پلی‌مورفیسم rs2016520 موجود در ژن PPARD و ارتباط آن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در سرم خون جمعیت ایرانی. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۲(۴۷)، ۳۹-۲۹.

مقدمه

چربی خون یک مشکل جهانی و رو به افزایش در همه کشورها از جمله ایران است و یکی از تهدیدهای مهم برای سلامت جامعه می‌باشد (Brealey *et al*., 2009). چربی خون بالا به‌عنوان یک مشکل چند علتی تحت تأثیر مجموعه عوامل مختلف، به‌ویژه عوامل اجتماعی، رفتاری، فرهنگی، فیزیولوژیکی، متابولیکی و ژنتیکی قرار دارد (Engelking, 2015). با وجود این‌که تخمین زده می شود که سهم وراثت در بروز چربی خون بالا، ۴۰ تا ۶۰ درصد است (Majithia *et al*., 2015)، اما تحقیقات نشان داده‌اند که عوامل تغذیه‌ای و عوامل محیطی، نظیر فعالیت بدنی می‌توانند حساسیت ژنتیکی افراد را در بروز چربی خون را تحت تأثیر قرار دهند (Gjuladin-Hellon *et al*., 2018). بنابراین، بررسی تداخل بین عوامل محیطی و ژن‌های دخیل در چربی خون در طراحی برنامه‌های پیش‌گیری بسیار دارای اهمیت می‌باشد. اگرچه بیماری چربی خون در بین خانواده‌ها می‌تواند به ارث برسد، اما با این‌حال در اکثر موارد دارای توارث ساده مندلی نبوده است. به‌عبارت دیگر، یک بیماری چندژنی به‌شمار رفته که اغلب ژن‌های مرتبط با آن هم‌چنان ناشناخته باقی مانده‌اند (Weissglas-Volkov *et al*., 2010). پژوهش ها نشان داده که هاپلوتیپ‌های PPARD (rs2016520، rs9794 و rs3734254) متابولیسم کلسترول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Holzapfel *et al*., 2006).

مطالعات در ایران نشان داده که ۴۱/۶ درصد افراد کلسترول بالا، ۴۶/۰ درصد تری‌گلیسرید بالا، ۳۵/۵ درصد LDL بالا و ۴۳/۹ درصد HDL پایین دارند (Maroufizadeh *et al*., 2017). لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) از مقدار ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به بالا، به‌عنوان LDL بالا محسوب می‌شود. افزایش سطح LDL با افزایش مرگ‌ومیر مرتبط است (Lisak *et al*., 2013) و خطر بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش می دهد (Jeong *et al*., 2018).

نتایج مطالعاتی که ارتباط بین چربی خون و عوامل ژنتیکی را بررسی کرده‌اند، نشان داده اند که ۴۰ تا ۶۰ درصد از سطح لیپوپروتیین، ژنتیکی است. اما با این وجود نشان داده شده است که عوامل تغذیه‌ای و عوامل محیطی نظیر فعالیت بدنی می‌توانند حساسیت ژنتیکی افراد را در بروز کلسترول بالا تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، بررسی تداخل بین عوامل محیطی و ژن‌های دخیل در چربی خون در طراحی برنامه‌های پیش‌گیری بسیار دارای اهمیت می‌باشد (García-Giustiniani *et al*., 2016).

چربی خون بالا به‌صورت مستقیم به سلامتی شخص آسیب نمی‌رساند، اما نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بالابودن چربی خون مسئول ۵۰ درصد بیماری‌های قلبی و عروقی است. هم چنین تأثیر چربی خون بالا بر بیماری‌های دیگری مانند چاقی، دیابت و سندرم‌های متابولیک مشخص شده است (Emerging Risk Factors Collaboration *et al*., 2009).

تعیین تأثیرات ژنتیکی بر روی بیماری‌های انسانی دشوار است، زیرا تفکیک عوامل محیطی از عوامل ژنتیکی مؤثر بر روی بیماری‌ها مشکل است. به‌نظر می‌رسد که تعداد بسیاری از ژن‌ها، هر یک با اثرات جزئی در این امر دخالت داشته باشند (Moghimi-Dehkordi *et al*., 2012).

ژن PPARD بر روی کروموزوم ۶ در جایگاه 6p21 قرار دارد. این ژن باعث بیان گیرنده‌های فعال‌شده با تکثیر پراکسی‌زوم (PPAR) نوع دلتا می‌شود (Schmidt *et al*., 1992).

گیرنده های فعال شده با تکثیر پراکسی زومی (PPARs) شامل ابرخانواده گیرنده های هسته ای فاکتورهای رونویسی فعال شده با لیگاند هستند که در چندین فرایند متابولیک، از جمله متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها نقش دارند (Maciejewska-Skrendo *et al*., 2019). این گیرنده‌ها گروهی از فاکتورهای نسخه‌برداری وابسته به لیگاند هستند که روی عملکرد سیتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد اثر می‌گذارند و ممکن است در مکانیسم‌های مولکولی تنظیم‌کننده آنژیوژنز دخالت داشته باشند. عملکرد این ژن در بیماری‌هایی مانند دیابت، اضافه وزن، چربی خون و سرطان نیز تأثیرگذار است (Bergee *et al*., 2002; Feige *et al*., 2006). بیان این ژن با انجام فعالیت‌های فیزیکی افزایش می‌یابد که می تواند منجر به افزایش سوخت‌وساز چربی شود (Giordano Attianese *et al*., 2015).

با توجه به نقش پروتئین‌های PPAR در بیماری‌های متابولیک مانند دیابت، قند خون، چربی خون و سندرم‌های متابولیک، ژن‌های بیان‌کننده این پروتئین‌ها و پلی‌مورفیسم‌های آن ها موردتوجه قرار می‌گیرند. یکی از ژن های مهم در این خانواده، ژن PPARD است (Botta *et al*., 2018).

یکی از بهترین رویکردها برای مطالعه بیماری‌های پیچیده و چندعاملی مانند کلسترول بالا، که بروزشان بستگی به چندین ژن به‌همراه فاکتورهای محیطی دارد مطالعات ارتباط ژنومی است. در این روش به دنبال آن هستیم که ببینیم آیا

یک آلل خاص در افراد بیمار، در مقایسه با افراد نرمال، شیوع یا فراوانی بیش‌تری دارد یا خیر. این رویکرد اغلب به‌عنوان مطالعهٔ مورد–شاهد توصیف می‌شود. چنانچه شیوع در دو گروه تفاوت معنی داری داشته باشد، برای ارتباط مثبت یا منفی شواهدی ارائه می‌شود (Tan, 2011).

با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، به‌نظر می‌رسد که میزان بیان PPAR و LDL با هم در ارتباط باشند. بنابراین، ژن‌هایی که در تنظیم میزان PPAR نقش دارند، می‌توانند بر مواردی مانند سطح LDL نیز تأثیر داشته باشند. یکی از ژن‌های مهم در این زمینه ژن PPARD می‌باشد که مسئول بیان رسپتورهای PPA دلتا است. با توجه به مطالب فوق، مطالعه حاضر با هدف بررسی پلی‌مورفیسم rs2016520 موجود در ژنPPARD و ارتباط آن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در سرم خون جمعیت ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

این پژوهش در سال ۱۳۹۸ و به‌صورت موردی- شاهدی انجام شد. نمونه‌گیری بین زنان (۸۳ نفر) و مردان (۵۴ نفر)، در محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال انجام گرفت. معیار انتخاب افراد در این پژوهش سطح LDL خون افراد بود. اطلاعات دیگری مانند BMI و سابقه چاقی خانوادگی نیز پرسیده شد. تعداد کل نمونه‌ها ۱۳۷ نفر شامل ۷۹ نفر سالم (شاهد) و ۵۸ نفر بیمار بود. افرادی که LDL آن‌ها بالاتر از ۱۳۰ میلی گرم/دسی لیتر بود به‌عنوان بیمار و افرادی که LDL پایین‌تر از ۱۳۰ میلی گرم/دسی لیتر داشتند به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. افرادی که دارای سابقه بیماری خاص و یا کیفیت نامناسب نمونه بودند، از مطالعه خارج شدند. در انتخاب افراد شاهد دقت گردید که قبلاً سابقه رژیم غذایی یا فعالیت دیگری که منجر به کاهش سطح LDL آن‌ها شده باشد، نداشته باشند. جهت جمع‌آوری اطلاعات، پرسشنامه‌ای که در آن اطلاعاتی از قبیل سن، جنس، سطح LDL خون، قد، وزن، داشتن و هر گونه رژیم غذایی بود، طراحی گردید.

خون‌گیری از افراد

از هر فرد، ۵ سی‌سی خون گرفته و داخل لوله حاوی EDTA ریخته شد تا از لخته‌شدن آن جلوگیری گردد.

استخراج DNA

از روش استخراج به‌وسیله کیت آماده استخراج DNA استفاده شد. غلظت و کیفیت DNAی جداشده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری و ژل آگارز سنجیده شد.

طراحی پرایمر

برای بررسی پلی‌مورفسیم rs2016520و تشخیص پلی‌مورفیسم و انجام PCR یک جفت پرایمر با توالی‌های زیر با نرم‌افزار oligo طراحی گردید.

جدول ۱. توالی پرایمر برای پلی‌مورفیسم مورد نظر

	Sequence (5'->3')
Forward	GAAGGAGCAGGAGCAGAAGA
Reverse	CAGTCATAGCTCTGGCATCG

مراحل انجامPCR

از پرایمرهای Reverse و Forward نیز به نسبت ۱ (پرایمر) به ۹ (آب) رقیق شدند. اجزای واکنش به‌صورتی‌که در ادامه در جدول آورده شده برای انجام واکنش با هم مخلوط شدند. مسترمیکس تمام اجزای لازم برای انجام واکنش پی‌سی‌آر کمی را داراست و تنها لازم است که پرایمرها و نمونه‌های DNA به آن اضافه شود. این فرایند با رساندن دوباره دما به ۹۵ درجه سانتی گراد و جداشدن رشته‌ها سپس پایین‌آوردن دما تا ۶۰ درجه سانتی گراد و چسبیدن پرایمرها و بالابردن دما تا ۷۲ درجه سانتی گراد برای فعالیت تک پلیمراز تکرار می‌شود. بعد از انجام PCR برای بررسی صحت انجام کار، محصول آن روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد. مارکر DNA ladder 50bp برای مشخصکردن طیف گسترده‌ای از باندها با اندازه‌های مختلف استفاده شد.

پلی‌مورفیسم در طول قطعات محدود (RFLP)

آنزیم محدودکننده BslI سایت‌های ↓ 3'... GGNN 5'... NNNNNCC ...5' و 3'...NNGG↑ 5'... CCNNNNN را تشخیص می‌دهد و در دکمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در بافر کات اسمارت برش می‌دهد. حروف N در محل برش می‌تواند هر نوکلئوتیدی باشد.

شناسایی ژنوتیپ‌ها به‌وسیله روش PCR-RFLP

بعد از این که محصول PCR تحت اثر آنزیم قرار داده شد، سه حالت به‌وجود آمد. در حالت اول قطعه بدون برش‌خوردن به طول ۱۸۷

جفت باز باقی ماند. در حالت دوم که هموزیگوت بودند دو باند دیده شد یکی ۱۴۱ جفت باز و دیگری ۴۶ جفت باز. حالت سوم حالت هتروزیگوت بود که سه باند ۱۸۷، ۱۴۱ و ۴۶ جفت بازی دیده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. جدول توزیع فراوانی و نمودار فراوانی، درصد، میانگین، انحراف معیار، ضریب همبستگی، واریانس، آزمون T و آزمون کای اسکور (X^2) استفاده شد.

نتایج

آمار توصیفی نمونه‌ها

میزان ۶۰/۶ درصد از نمونه‌ها زن و ۳۹/۴ درصد مرد بودند (نمودار۱). درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها شامل CC: ۵۵/۵، CT: ۳۷/۲ و TT: ۷/۳ می‌باشد (نمودار ۲). ۵۷/۷ درصد از نمونه‌ها، LDL پایین تر از ۱۳۰ و ۴۲/۳ درصد، LDL بالاتر از ۱۳۰ دارند (نمودار ۳). ۲/۵۶ درصد از نمونه‌ها، BMI پایین‌تر از ۲۵ و ۴۳/۸ درصد، BMI بالاتر از ۲۵ دارند (نمودار ۴).

PCR و هضم آنزیمی نمونه‌ها

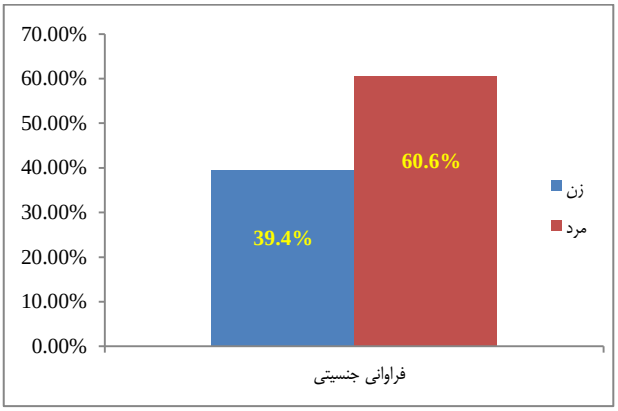
پرایمرهای طراحی‌شده برای انجام این مطالعه، قطعه‌ای از ژنوم را که حاوی پلی‌مورفیسم موردمطالعه بود تکثیر می‌کنند. طول قطعه تکثیرشده ۱۸۷ جفت باز است. سپس به‌منظور برش قطعه تکثیرشده، از آنزیم محدودکننده BslI استفاده شد. در شکل زیر محصول PCR و محصول هضم آنزیمی مشاهده می‌شود (شکل ۱).

مقایسه متغیر سن بین دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالا

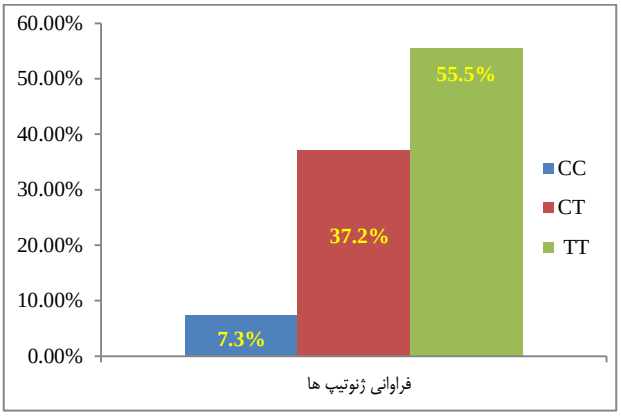
بنا بر جدول ۲ تعداد نمونه‌ها، میانگین سنی و کم‌ترین و بیش‌ترین سن شرکت‌کننده‌ها در پژوهش مشاهده می‌شود. نتایج آزمون من-ویتنی نشان داد که تفاوت سنی معنی داری بین دو گروه آزمایش وجود ندارد (نمودار ۵).

فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه افراد با LDL نرمال

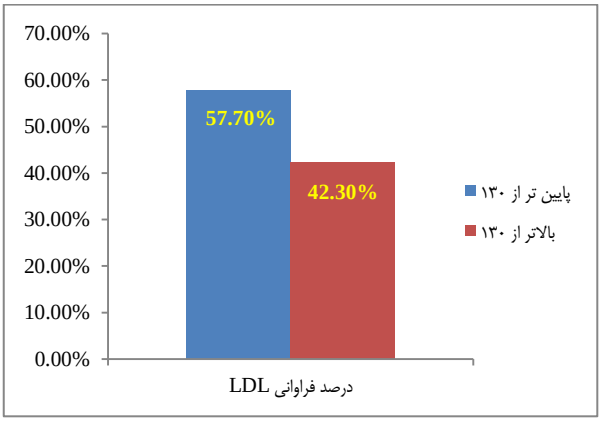
جدول ۳ توزیع در گروه افراد با LDL نرمال (گروه شاهد) را نشان می‌دهد. جدول ۴ میزان LDL برای هر ژنوتیپ را نشان می‌دهد. میانگین LDL برای ژنوتیپ CC، CT و TT به ترتیب برابر با ۱۲۷/۶۰، ۱۱۰/۴۵ و ۱۰۹/۳۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر می باشد. آزمون Post Hoc Tests (دانکن) برای وابستگی این ژنوتیپ‌ها با میزان LDL نشان داد که اختلاف این ژنوتیپ‌ها معنی دار نیست (P= ۰/۱۰۶). جدول ۵ تجزیه واریانس میزان LDL در ژنوتیپ‌هاست که نشان می‌دهد، ژنوتیپ‌ها با LDL رابطه معنی‌دار نداشته‌اند.



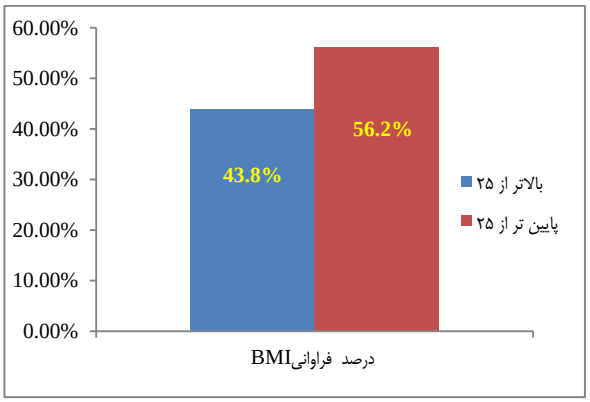
نمودار ۱. درصد فراوانی جنسیتی در جمعیت موردمطالعه



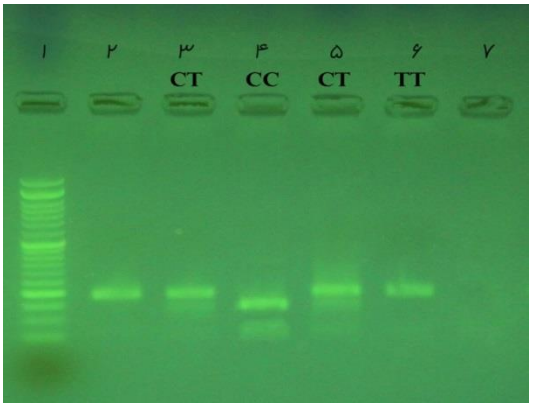
نمودار ۲. درصد فراوانی ژنوتیپ



نمودار ۳. درصد فراوانی سطح LDL در جمعیت موردمطالعه



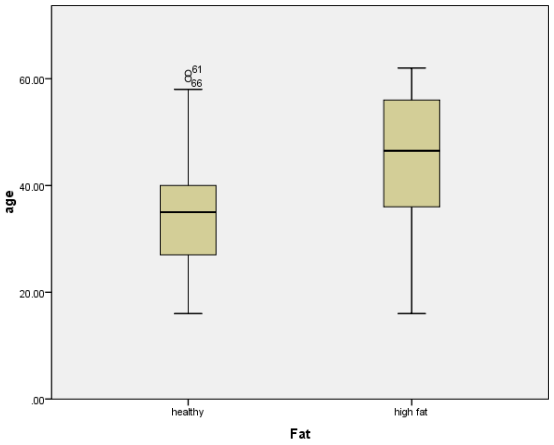
نمودار ٤. درصد فراوانی BMI در جمعیت موردمطالعه



شکل ۱. هضم آنزیمی به‌کمک BslI، ردیف ۱ لدر ۵۰bp، ردیف ۲ محصول PCR بدون هضم آنزیمی، ۳ و ۵ هتروزیگوت CT با طول باندهای ۱۸۷، ۱۴۱ و ۴۶ ۴ هموزیگوت CC با طول باند ۱۴۱ و ۴۶ جفت باز، ۶ هموزیگوت TT با طول باند ۱۸۷، ردیف ۷ کنترل منفی

جدول ۲. آمار توصیفی سن (آزمون من–ویتنی)

	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کم‌ترین	بالاترین
سن	۱۳۷	۳۹/۳۴۳۱	۱۲/۰۸۸۱۸	۱۶/۰۰	۶۲/۰۰



نمودار ۵. مقایسه سن بین دو گروه با LDL نرمال و LDL بالاتر از ۱۳۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر.
تفاوت سنی معنی‌داری بین دو گروه با LDL نرمال و LDL بالا وجود ندارد.

جدول ۳. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های شاهد (کنترل) در آزمایش

ژنوتیپ	فراوانی ساده	درصد فراوانی
CC	۱۰	۷/۳
CT	۵۱	۳۷/۲
TT	۷۶	۵۵/۵
کل	۷۷	۱۰۰

جدول ٤. خلاصه آماری LDL برای ژنوتیپ‌ها

ژنوتیپ	تعداد	میانگین LDL	انحراف معیار	خطای استاندارد	سطح احتمال ۹۵ درصد		حداقل	حداکثر
					حد پایین	حد بالا		
CC	۱۰	۶۰/۱۲۷	۹۱۱۷۲/۲۹	۹/۴۵۸۹۲	۲۰۲۴/۱۰۶	۹۹۷۶/۱۴۸	۰۰/۶۱	۰۰/۱۶۷
CT	۵۱	۴۵/۱۱۰	۷۲۷۸۲/۳۶	۵/۱۴۲۹۲	۱۲۱۱/۱۰۰	۷۸۰۸/۱۲۰	۰۰/۵۵	۰۰/۱۷۲
TT	۷۶	۳۲/۱۰۹	۳۵/۶۳۳۴۶	۴/۰۸۷۴۴	۱۸۶۴/۱۰۱	۴۷۱۵/۱۱۷	۰۰/۵۴	۰۰/۱۷۷
مجموع	۱۳۷	۰۸/۱۱۱	۳۵/۷۳۹۲۶	۳/۰۵۳۴۱	۰۴۲۰/۱۰۵	۱۱۸۶/۱۱۷	۰۰/۵۴	۰۰/۱۷۷

جدول ۵. تجزیه واریانس (ANOVA) میزان LDL در ژنوتیپ‌های مربوطه

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمونF	سطح معنی‌داری
بین گروه‌ها	۲۹۸۲/۳۱۳	۲	۱۴۹۱/۱۵۷	۱/۱۷۰	۰/۳۱۳
در گروه‌ها	۱۷۰۷۲۹/۸۰۴	۱۳۴	۱۲۷۴/۱۰۳		
کل	۱۷۳۷۱۲/۱۱۷	۱۳۶			

بررسی فراوانی و ارتباط ژنوتیپ‌ها با سطح LDL

در جدول ۶، فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰ مشاهده می شود. درصد فراوانی ژنوتیپ ها در گروه باLDL نرمال، ۳/۸ درصد برای CC، ۳۶/۷ درصد برای CT و ۵۹/۵ درصد برای ژنوتیپ TT بود. هم چنین درصد فراوانی ژنوتیپ ها در گروه باLDL بالاتر از ۱۳۰: ۱۲/۱ درصد برای CC، ۳۷/۹ درصد برای CT و ۵۰/۰ درصد برای ژنوتیپ TT بود. اختلاف فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰ معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

بررسی فراوانی و ارتباط ژنوتیپ ها با سطح LDL برحسب جنسیت

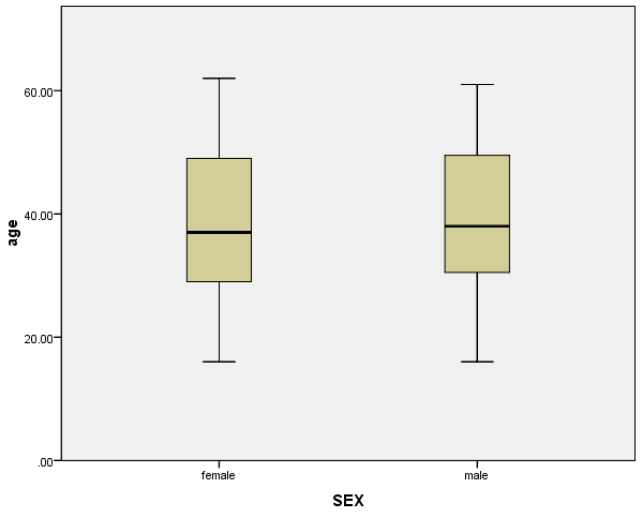
در جدول ۷ فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ ها در دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰ به تفکیک برحسب جنسیت مشاهده می‌شود. بنابر نمودار ۶، درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه با جنسیت زن وLDL نرمال برای ژنوتیپ‌های CC، CTو TTبه ترتیب برابر ۳/۱، ۲۸/۱ و ۶۸/۸ می باشد. درصد فراوانی ژنوتیپ ها در گروه با جنسیت زن وLDL بالاتر از ۱۳۰ برای ژنوتیپ‌های CC، CTو TTبه ترتیب برابر ۹/۱، ۳۱/۸ و ۵۹/۱ می باشد. طبق نمودار ۷، درصد فراوانی ژنوتیپ ها در گروه با جنسیت مرد وLDL نرمال برای ژنوتیپ‌های CC، CTو TTبه‌ترتیب برابر ۴/۳، ۴۲/۶ و ۵۳/۲ می‌باشد. هم‌چنین درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه با جنسیت مرد وLDL بالاتر از ۱۳۰ برای ژنوتیپ‌های CC، CTو TTبه‌ترتیب برابر ۱۳/۹، ۴۱/۷ و ۴۴/۴ می‌باشد. اختلاف فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰، در دو جنس معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵).

جدول ٦. فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه موردمطالعه

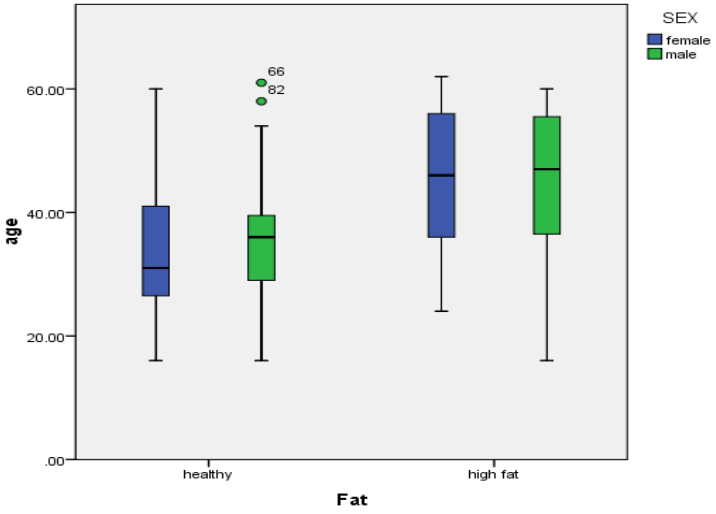
گروه‌ها		ژنوتیپ‌ها			مجموع
		CC	CT	TT	
نرمالLDL	تعداد	۳	۲۹	۴۷	۷۹
	درصد فراوانی	۸/۳	۷/۳۶	۵/۵۹	۰/۱۰۰
بالاتر از ۱۳۰LDL	تعداد	۷	۲۲	۲۹	۵۸
	درصد فراوانی	۱/۱۲	۹/۳۷	۰/۵۰	۰/۱۰۰
مجموع	تعداد	۱۰	۵۱	۷۶	۱۳۷
	درصد فراوانی	۳/۷	۲/۳۷	۵/۵۵	۰/۱۰۰

جدول ۷. فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه موردمطالعه با تفکیک برحسب جنسیت

[ksdj			ژنوتیپ‌ها			مجموع
			CC	CT	TT	
زن	LDL نرمال	تعداد	۱	۹	۲۲	۳۲
		درصد فراوانی	۱/۳	۱/۲۸	۸/۶۸	۰/۱۰۰
	LDL بالاتر از ۱۳۰	تعداد	۲	۷	۱۳	۲۲
		درصد فراوانی	۱/۹	۸/۳۱	۱/۵۹	۰/۱۰۰
	مجموع	تعداد	۳	۱۶	۳۵	۵۴
		درصد فراوانی	۶/۵	۶/۲۹	۸/۶۴	۰/۱۰۰
مرد	LDL نرمال	تعداد	۲	۲۰	۲۵	۴۷
		درصد فراوانی	۳/۴	۶/۴۲	۲/۵۳	۰/۱۰۰
	LDL بالاتر از ۱۳۰	تعداد	۵	۱۵	۱۶	۳۶
		درصد فراوانی	۹/۱۳	۷/۴۱	۴/۴۴	۰/۱۰۰
	مجموع	تعداد	۷	۳۵	۴۱	۸۳
		درصد فراوانی	۴/۸	۲/۴۲	۴/۴۹	۰/۱۰۰



نمودار ٦. فراوانی نمونه‌ها از نظر جنسیت برحسب سن



نمودار ۷. مقایسه فراوانی افراد نرمال و افراد با LDL بالاتر از ۱۳۰ برحسب سن و با تفکیک جنسیت. تفاوت جنسیتی معنی‌داری بین دو گروه با LDL نرمال و LDL بالا وجود ندارد. Fat: سطح LDL سرم، چربی بالا (high fat): افراد با LDL بالاتر از ۱۳۰، سالم (healthy): افراد با LDL پایین‌تر از ۱۳۰

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این که امروزه در جوامع صنعتی و پیشرفته، افزایش سطح چربی خون یکی از مشکلات مهم به‌شمار می رود و تداوم آن در بروز بیماری‌های قلبی– عروقی، دیابت و حتی سرطان‌زایی (Cruz *et al*., 2013) مؤثر می‌باشد، شناخت عوامل ژنتیکی مؤثر در بروز آن یکی از چالش‌های پژوهش‌گران می‌باشد. چربی‌های خون شامل کلسترول‌ها و تری‌گلیسیریدها می باشند و سطح آن ها بستگی به عوامل رفتاری، ارثی و محیطی دارد. تنظیم تعادل بین چربی های مختلف خون، سازوکار پیچیده‌ای دارد و مطالعات نشان داده‌اند که عوامل ژنتیکی، نقش مهمی را در این تنظیم ایفا می‌نمایند (Brealey *et al*., 2009).

طی یک مطالعه متاآنالیز گسترده که روی نتایج مطالعات GWASs (Genome-wide Association Studies) انجام شد، ۹۵ پلی مورفیسم که بر سطح چربی خون تأثیرگذار بودند شناسایی شدند که از این تعداد ۵۹ عدد قبلاً شناخته نشده بودند. نتایج این مطالعه ۲۵ تا ۳۰ درصد از تنوع ژنتیکی مربوط به سطح چربی پلاسما را شامل می‌شد (Teslovich *et al*., 2010). با این وجود، تعداد زیادی از پلی مورفیسم‌های مربوط به سطح چربی پلاسما ناشناخته باقی مانده‌اند (Manolio *et al*., 2009).

یکی از جامع‌ترین مطالعاتی که در سال ۲۰۱۲ با استفاده از روش مطالعات گسترده ارتباطی ژنومی (GWAS) انجام شد، بررسی ارتباط میان ۲۰۰۰ نشانگر SNP با شاخص‌های مختلف چربی خون

بود. یکی از ژن‌هایی که ارتباط آن با سطح چربی سرم موردبررسی قرار گرفت، ژن PPARD و پلی‌مورفیسم rs2016520 بود (Asselbergs *et al*., 2012).

مطالعات متعددی جهت بررسی ارتباط این ژن با سطح چربی‌های خون و اضافه وزن در جمعیت‌های مختلف انجام‌شده است، بنابراین بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های این ژن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین در جمعیت ایران هم می‌تواند نتایج شفاف‌تری را نشان دهد. ارتباط بین آلل rs1801282 ژن PPARG و آنژین ناپایدار در جمعیت لهستانی نشان داده شده است (Maciejewska-Skrendo *et al*., 2019).

یکی از پلی‌مورفیسم‌های مهم در ژن PPARD، rs2016520 است. این پلی‌مورفیسم باعث تغییر نوکلئوتید C به T می‌شود. این پلی مورفیسم تأثیر در سوخت‌وساز چربی، موردتوجه مطالعات ژنتیک ورزشی بوده است (Yang *et al*., 2019).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این پلی مورفیسم باعث تغییر در میزان رسپتورهای PPA دلتا می‌گردد (Maciejewska *et al*., 2019). هم‌چنین این پلی‌مورفیسم می‌تواند در سطح CRP هم تأثیرگذار باشد که یکی از فاکتورهای مهم سلامت عمومی محسوب می‌شود (Qi *et al*., 2016).

پلی مورفیسم‌های ژن PPAR و ارتباط آن با بیماری‌های قلبی و خطر مرگ‌ومیر در مریلند آمریکا، بررسی شده است. در این مطالعه ۹۳۶۴ نفر موردآزمایش قرار گرفتند و نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های ژن PPAR و بیماری‌های قلبی عروقی در جمعیت موردمطالعه، ارتباط معنی‌داری ندارند. در مقابل مشخص شد که بعضی از این پلی مورفیسم‌ها با فشار خون، شاخص توده بدنی و سطح کلسترول در ارتباط بودند (Gallicchio *et al*., 2008).

مطالعات قبلی نشان داده بودند که آلل C با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در ارتباط است و باعث افزایش آن می‌شود (Leońska-Duniec *et al*., 2018 Burch *et al*., 2010;). البته برخی مطالعات هم آلل T را به عنوان ریسک آلل معرفی کردند (Gallicchio *et al*., 2008).

در مطالعه‌ی دیگری ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های زیرواحدهای مختلف ژن PPAR و اضافه وزن و چربی های سرم بررسی گردیده و یکی از پلی مورفیسم‌های موردمطالعه rs2016520 بوده است. نتایج نشان داد که در جمعیت موردمطالعه (جمعیت هان در چین)، پلی‌مورفیسم rs2016520 با اضافه وزن و چربی‌های سرم در ارتباط است (Luo *et al*., 2013).

در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ۱۱۰۴۷ نفر و در انگلستان انجام شد، ارتباط بین پلی مورفیسم rs2016520 و فنوتیپ‌های متابولیک بررسی گردید. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم موردنظر با مواردی مانند HDL، کلسترول و لپتین در ارتباط است. البته نتایج این مطالعه بین جنس زن و مرد متفاوت بود (Burch *et al*., 2010).

طی پژوهشی نشان داده شد که آلل A از پلی مورفیسم rs2016520، باعث افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین می‌شود. ارتباط این پلی‌مورفیسم با چربی‌های سرم در مردها بیش‌تر بود. هم‌چنین میزان LDL در افرادی که بیماری مغزی داشتند بیش‌تر بود (Huang *et al*., 2015).

در افرادی که نوشیدنی‌های الکلی مصرف می‌کنند، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs2016520 و سطح چربی‌های سرم وجود نداشت. فراوانی آلل T و C به ترتیب در گروهی که نوشیدنی مصرف نمی‌کردند، ۷۴/۲ درصد و ۲۵/۸ درصد بود و فراوانی آلل T و C به‌ترتیب در گروهی که نوشیدنی‌های الکلی مصرف می‌کردند ۷۶/۲ و ۲۳/۸ درصد بود. هم چنین افراد با آلل C کلسترول تام بالاتری داشتند (Wei *et al*., 2011).

نتایج مطالعه نشان داد که بودن آلل G مرتبط با rs1801282 می تواند ۱/۷ برابر خطر ابتلا به چاقی را افزایش دهد. این تفاوت‌ها در گروه بیمار و سالم نشان داد که این مارکر می تواند یکی از مارکرهای پیشنهادی جهت پیشگویی خطر چاقی باشد (Asghari Lalami *et al*., 2016).

تا کنون چندین مطالعه مروری روی چاقی و عوامل آن در ایران انجام شده است (Jafari-Adli *et al*., 2014; Tabatabaee-Malazi & Larijani, 2013). طی یک مطالعه مروری در ایران، ۱۵۲ مطالعه واجد شرایط بررسی شد که ۷۴ مطالعه شیوع اضافه وزن یا چاقی را در بیماران کم‌تر از ۱۸ سال و ۶۱ مطالعه اضافه وزن یا چاقی را در بزرگسالان گزارش کردند. در بقیه مقالات (۱۷ مطالعه)، نتایج برای ترکیبی از این گروه‌های سنی گزارش شده است. شیوع اضافه وزن و چاقی در ایران به‌ترتیب ۲۰/۱ و ۱۳/۴۴ برآورد شد. شیوع کلی اضافه وزن و چاقی در کل جمعیت ۳۵/۰۹ درصد بود (Abiri *et al*., 2023).

یافته‌های ما در پژوهش حاضر نشان دادند که در جمعیت موردمطالعه، میان ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم rs2016520 و سطح LDL بالای ۱۳۰ ارتباط معنی داری وجود ندارد. البته آنالیز آماری با تفکیک جنسیتی هم انجام شد و باز هم ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs2016520 و سطح LDL بالای ۱۳۰ در دو جنس مشاهده نگردید. با وجود این‌که در دو جنس هم

تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما سطح معنی‌داری متفاوت بود. به این‌صورت که سطح معنی‌داری در مردان کم‌تر بود (۰/۲ در برابر ۰/۵). یعنی ژنوتیپ CC در مردان، بیش تر با LDL بالای ۱۳۰ در ارتباط بود. البته جهت تایید بیش‌تر نتایج این پژوهش، لازم است چنین مطالعاتی در جمعیت های با تعداد بیش‌تر و در قومیت‌های مختلف انجام شود.

بیش تر مطالعات قبلی آلل C را در ارتباط با بالابودن سطح LDL و کلسترول نشان داده بودند اما نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs2016520 و سطح LDL نشان نداد. هرچند که سطح معنی داری در مردان کم تر بود، اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با وجود این‌که این موضوع می‌تواند به‌خاطر تفاوت میان جمعیت‌های موردمطالعه باشد، اما برخی از مطالعات قبلی هم تفاوت معنی داری میان این پلی مورفیسم و سطح کلسترول خون نشان ندادند. با این‌حال، نتایج مطالعاتی از این دست می‌تواند باعث شناخت بهتر عملکرد پلی مورفیسم‌ها گردد و کمک کند که در آینده با استفاده از پروفایل ژنتیکی افراد، به بالابردن سطح سلامت جامعه کمک کرد. این مطالعات این امید را به‌وجود آورده‌اند که بتوان با شناخت بهتر این پلی مورفیسم‌ها، روش‌های مؤثرتری جهت درمان و پیشگیری از چربی خون بالا یافت.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

Abiri, B., Ahmadi, A.R., Amini, S., Akbari, M., Hosseinpanah, F., Madinehzad, S.A., Hejazi, M., Rishehri, A.P., Naserghandi, A., & Valizadeh, M. (2023). Prevalence of overweight and obesity among Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Health and Population Nutrition*, *42*(1), 70.

Asghari Lalami, Z., Ebrahimi, A., & Daneshpour, M. (2016). Evaluating the relation of rs1801282 polymorphism in PPAR-γ gene with obesity in Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS) participants. *Tehran University Medical Journal*, *74*(6), 415-424.

Asselbergs, F.W., Guo, Y., van Iperen, E.P., Sivapalaratnam, S., Tragante, V., Lanktree, M.B., Lange, L.A., Almoguera, B., Appelman, Y.E., Barnard, J.., Baumert, J., Beitelshees, A.L., Bhangale, T.R., Chen, Y.D., Gaunt, T.R., Gong, Y., Hopewell, J.C., Johnson, T., Kleber, M.E., Langaee, T.Y., & Drenos, F. (2012). Large-scale gene-centric meta-analysis across 32 studies identifies multiple lipid loci. *American Journal of Human Genetics*, *91*(5), 823-838.

Berger, J., & Moller, D.E. (2002). The mechanisms of action of PPARs. Annual Review of Medicine *53*, 409-435.

Botta, M., Audano, M., Sahebkar, A., Sirtori, C.R., Mitro, N., & Ruscica, M. (2018). PPAR agonists and metabolic syndrome: An established role?. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(4), 1197.

Brealey, D., & Singer, M. (2009). Hyperglycemia in Critical Illness: A Review. *Journal of Diabetes Science and Technology*, *3*(6), 1250-1260.

Burch, L.R., Donnelly, L.A., Doney, A.S..F, Brady, J., Tommasi, A.M., Whitley, A.L., Goddard, C., Morris, A.D., Hansen, M.K., & Palmer, C.N.A. (2010). Peroxisome proliferator-activated receptor-δ genotype influences metabolic phenotype and may influence lipid response to statin therapy in humans: A genetics of diabetes audit and research tayside study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *95*(4), 1830-1837.

Cruz, P.M., Mo, H., McConathy, W.J., Sabnis, N., & Lacko, A.G. (2013). The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis: a review of scientific findings, relevant to future cancer therapeutics. *Frontiers in Pharmacology*, *4*, 11-19

Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio, E., Sarwar, N., Perry, P., Kaptoge, S., Ray, K.K., Thompson, A., Wood, A.M., Lewington, S., Sattar, N., Packard, C.J., Collins, R., Thompson, S.G., & Danesh, J. (2009). Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*, *302*(18), 1993-2000.

Engelking, L.R. (2015). Cholesterol. Textbook of Veterinary Physiological Chemistry, pp, 390-396.

Feig J.E., Hewing B., Smith J.D., Hazen S.L., & Fisher E.A. (2014) High-density lipoprotein and atherosclerosis regression: evidence from preclinical and clinical studies. *Circulation Research*, *114*, 205-213.

Feige, J.N., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B., & Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Progress in Lipid Research*, *45*(2), 120-159.

Gallicchio, L., Kalesan, B., Huang, H.Y., & Strickland, P.T. (2008). Genetic Polymorphisms of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and the Risk of Cardiovascular Morbidity and Mortality in a Community-Based Cohort in Washington County, Maryland. *PPAR Research*, *4*, 276581

García-Giustiniani, D., & Stein, R. (2016). Genetics of dyslipidemia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, *106*(5), 434-438.

Giordano Attianese, G.M., & Desvergne, B. (2015). Integrative and systemic approaches for evaluating PPARβ/δ (PPARD) function. *Nuclear Receptor Signaling*, *13*, e001.

Gjuladin-Hellon, T., Davies, I.G., Penson, P., & Amiri Baghbadorani, R. (2019). Effects of carbohydrate-restricted diets on low-density lipoprotein cholesterol levels in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, *77*(3), 161-180.

Holzapfel, J., Heun, R., Lutjohann, D., Jessen, F., Maier, W., & Kolsch, H. (2006). PPARD haplotype influences cholesterol metabolism but is no risk factor of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, *408*(1), 57-61.

Huang, Y., Nie, S., Zhou, S., Li, K., Sun, J., Zhao, J., Fei, B., Wang, Z., Ye, H., Hong, Q., Gao, X., & Duan, S. (2015). PPARD rs2016520 polymorphism and circulating lipid levels connect with brain diseases in Han Chinese and suggest sex-dependent effects. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *70*, 7-11.

Jafari-Adli, S., Jouyandeh, Z., Qorbani, M., Soroush, A., Larijani, B., & Hasani-Ranjbar, S. (2014). Prevalence of obesity and overweight in adults and children in Iran; a systematic review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, *13*(1), 121.

Jeong, S.M., Choi, S., Kim, K., Kim, S.M., Lee, G., Son, J.S., Yun, J.M., & Park, S.M. (2018). Association of change in total cholesterol level with mortality: A population-based study. *PloS One*, *13*(4), e0196030.

Leońska-Duniec, A., Cieszczyk, P., Jastrzębski, Z., Jażdżewska, A., Lulińska-Kuklik, E., Moska, W., Ficek, K., Niewczas, M., & Maciejewska-Skrendo, A. (2018). The polymorphisms of the PPARD gene modify post-training body mass and biochemical parameter changes in women. *PloS One*, *13*(8), e0202557.

Lisak, M., Demarin, V., Trkanjec, Z., & Basić-Kes, V. (2013). Hypertriglyceridemia as a possible independent risk factor for stroke. *Acta Clinica Croatica*, *52*(4), 458-463.

Luo, W., Guo, Z., Wu, M., Hao, C., Hu, X., Zhou, Z., Zhou, Z., Yao, X., Zhang, L, & Liu, J. (2013). Association of peroxisome proliferator-activated receptor α/δ/γ with obesity, and gene-gene interaction, in the Chinese Han population. *Journal of Epidemiology*, *23*(3), 187-194.

Maciejewska-Skrendo, A., Pawlik, A., Sawczuk, M., Rać, M., Kusak, A., Safranow, K., & Dziedziejko, V. (2019). PPARA, PPARD and PPARG gene polymorphisms in patients with unstable angina. *Gene*, 711, 143947.

Majithia, A.R., & Hirschhorn, J.N. (2015). Williams Textbook of Endocrinology, 13th Edition, Elsevier, 1936 p.

Manolio, T.A., Collins, F.S., Cox, N.J., Goldstein, D.B., Hindorff, L.A., Hunter, D.J., McCarthy, M.I., Ramos, E.M., Cardon, L.R., Chakravarti, A. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, *461*, 747-753.

Maroufizadeh, S., Almasi-Hashiani, A., Hosseini, M., Sepidarkish, M., & Omani Samani, R. (2017). Prevalence of diabetic retinopathy in Iran: a systematic review and Meta-analysis. *International Journal of Ophthalmology*, *10*(5), 782-789.

Moghimi-Dehkordi, B., Safaee, A., Vahedi, M., Pourhoseingholi, M.A., Pourhoseingholi, A., & Zali, M.R. (2012). The Prevalence of Obesity and its Associated Demographic Factors in Tehran, Iran. *Health and Development Journal*, *1*(1), 22-30.

Qi S, Wang, C., Zhang, Y., Cheng, Y., Wang, S., & Zhao, Y. (2016). The association of peroxisome proliferator-activated receptor α with diabetic retinopathy, and additional gene-obesity interaction in Chinese type 2 diabetes mellitus patients. *Obesity Research and Clinical Practice*, *10*(Suppl 1), S103-S109.

Schmidt, A., Endo, N., Rutledge, S.J., Vogel, R., Shinar, D., & Rodan, G.A. (1992). Identification of a new member of the steroid hormone receptor superfamily that is activated by a peroxisome proliferator and fatty acids. *Molecular Endocrinology*, *6*, 1634-1641.

Tabatabaee-Malazi, O., & Larijani, B. (2013). A Review of the prevalence of obesity and its management in Iran. *Journal of Diabetes and Metabolism*, *357*, 12-74.

Tan, E.K. (2011). Genetic marker linking inflammation with sporadic Parkinson's disease. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, *40*(2), 111-112.

Teslovich, T.M., Musunuru, K., Smith, A.V., Edmondson, A.C., Stylianou, I.M., Koseki, M., Pirruccello, J.P., Ripatti, S., Chasman, D.I., & Willer, C.J. (2010). Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*, *466*, 707-713.

Wei, X.L., Yin, R.X., Miao, L., & Wu, D.F. (2011). The peroxisome proliferator-activated receptor delta +294T > C polymorphism and alcohol consumption on serum lipid levels. *Lipids in Health and Disease*, *10*, 242.

Weissglas-Volkov, D., & Pajukanta, P. (2010). Genetic causes of high and low serum HDL-cholesterol. *Journal of Lipid Research*, *51*(8), 2032-2057.

Yang, X., Yang, S., Xu, H., Zhang, Y., & Wang, G. (2019). Superoxide dismutase gene polymorphism is associated with ischemic stroke risk in the Chinese Han population. available at Research Square, [https://doi.org/10.21203/rs.2.16256/v1]