

Evaluation of rs1205 Polymorphism in C-Reactive Protein Encoding Gene and its Association with Serum Low-Density Lipoprotein in Iranian Population

Elham Imanian¹, Vida Hojati*¹, Farid Ebnerasuly²

1. Department of Biology, Da.C., Islamic Azad University, Damghan, Iran

2. Department of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Blood fat is a global problem and one of the major threats to society's health. Hyperlipidemia is considered a multigenic disease, most of the genes related to it remain unknown. rs1205 is one of the polymorphisms of the C-Reactive Protein (CRP) gene that causes the change of the nucleotide C to T and is one of the risk factors for increasing low-density lipoprotein (LDL) level. This study aimed to investigate the prevalence of rs1205 polymorphism in CRP gene and its relationship with LDL level in Iranian population.

Methods: The total number of samples was 137, including 79 controls and 58 patients (LDL above 130 mg/dL). Then the samples were analyzed using the amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) method for the presence or absence of rs1205 polymorphism in the CRP gene. The PCR product was transferred on agarose gel. After observing the bands and checking their correctness, different alleles were examined.

Results: 56.2% of the samples had a body mass index (BMI) lower than 25 and 43.8% had a BMI higher than 25. The frequency percentage of genotypes showed that CT genotype is equal to 47.4%, CC genotype is equal to 36.5% and TT genotype is equal to 16.1%. 57.7% of the samples had LDL below 130 and 42.3% had LDL above 130.

Conclusion: A significant relationship wasn't observed between the rs1205 polymorphism and the serum LDL level of the studied population. Also, the difference in age and gender of the samples had no effect on this relationship. It is possible that the lack of difference in ethnicity is one of the possible reasons for the non-significance of the results of this study.

Keywords: C-Reactive Protein Encoding Gene, CRP Gene, rs1205 Polymorphism, Low-Density Lipoprotein, Blood Fat

Please cite this article as:

Imanian E, Hojati V, Ebnerasuly F. Evaluation of rs1205 Polymorphism in C-Reactive Protein Encoding Gene and Its Association with Serum Low-Density Lipoprotein in Iranian Population. *ijdl*. 2025; 25(5):472-483.

DOI: [10.18502/ijdl.v25i5.20343](https://doi.org/10.18502/ijdl.v25i5.20343)

* **Corresponding Author:** Vida Hojati; **Email:** vida.hojati@iau.ac.ir

Cheshmeh-Ali Blvd, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Semnan, Iran. Postal code: 3671639998, Tel: +982335225041

بررسی پلی مورفیسم rs1205 موجود در ژن کدکننده پروتئین واکنشگر C و ارتباط آن با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین سرم در جمعیت ایرانی

الهام ایمانیان^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

چکیده

مقدمه: چربی خون یک مشکل جهانی و از تهدیدهای مهم برای سلامت جامعه است. چربی خون یک بیماری چندژنی بوده و اغلب ژن‌های مرتبط با آن ناشناخته‌اند. rs1205 یکی از پلی مورفیسم‌های ژن کدکننده پروتئین واکنشگر C (CRP) است که باعث تغییر نوکلئوتید C به T شده و یکی از فاکتورهای خطر برای افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) است. این پژوهش با هدف بررسی میزان شیوع پلی مورفیسم rs1205 در ژن CRP و ارتباط آن با سطح LDL در جمعیت ایرانی انجام شد.

روش‌ها: تعداد کل نمونه‌ها ۱۳۷ نفر، شامل ۷۹ نفر شاهد و ۵۸ نفر بیمار (LDL بالاتر از ۱۳۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) بود. سپس با استفاده از روش سیستم جهشی مقاوم به تکثیر- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (ARMS-PCR) از نظر وجود یا عدم وجود پلی مورفیسم rs1205 در ژن CRP، مورد بررسی قرار گرفتند. محصول PCR بر روی ژل آگارز انتقال داده شد. پس از مشاهده باندها و بررسی صحت آنها، آللهای مختلف، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: ۵۶/۲ درصد از نمونه‌ها، نمایه توده بدنی (BMI) پایین‌تر از ۲۵ و ۴۳/۸ درصد آنها، BMI بالاتر از ۲۵ داشتند. درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها نشان داد که ژنوتیپ CT معادل ۴۷/۴ درصد، ژنوتیپ CC معادل ۳۶/۵ درصد و ژنوتیپ TT معادل ۱۶/۱ درصد است. ۵۷/۷ درصد از نمونه‌ها، LDL پایین‌تر از ۱۳۰ و ۴۲/۳ درصد آنها، LDL بالاتر از ۱۳۰ داشتند.

نتیجه‌گیری: ارتباط معنی‌داری میان پلی مورفیسم rs1205 و سطح LDL سرم جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد. همچنین تفاوت سن و جنسیت نمونه‌ها نیز تأثیری در این رابطه نداشتند. احتمال می‌رود عدم تفاوت در قومیت، یکی از دلایل احتمالی معنادار نبودن نتایج این مطالعه باشد.

واژگان کلیدی: ژن کدکننده پروتئین واکنشگر C، ژن CRP، پلی مورفیسم rs1205، لیپوپروتئین با چگالی پایین، چربی خون

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Imanian E, Hojati V, Ebnerasuly F. Evaluation of rs1205 Polymorphism in C-Reactive Protein Encodind Gene and Its Association with Serum Low-Density Lipoprotein in Iranian Population. *ijld*. 2025; 25(5):472-483.

* نویسنده مسئول: ویدا حجتی، آدرس: دامغان، بلوار چشمه علی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، کد پستی: ۳۶۷۱۶۳۹۹۹۸، تلفن:

۰۲۳۳۵۲۲۵۰۴۹، پست الکترونیک: vida.hojati@iau.ac.ir

مقدمه

به بالا رفتن کلسترول یا تری گلیسرید در خون که در اثر مصرف مواد غذایی بیش از میزان مورد نیاز یا هنگام بروز اختلال در سوخت و ساز چربی افزایش می یابد، بیماری چربی خون گفته می شود [۲، ۱]. اگرچه بیماری چربی خون در بین خانواده ها می تواند به ارث برسد اما با این حال در اکثر موارد دارای توارث ساده مندلی نبوده به عبارت دیگر یک بیماری چند ژنی به شمار رفته که اغلب ژن های مرتبط با آن همچنان ناشناخته باقی مانده اند [۳]. چربی خون به عنوان یک چالش مهم بالینی و سلامت عمومی در سراسر جهان به شمار می رود. بر مبنای برآوردهای جهانی، در حدود ۳۹ درصد از جمعیت جهان کلسترول بالا دارند. بر این اساس، سازمان جهانی بهداشت چربی خون را به عنوان یک اپیدمی در حال افزایش در سطح جهانی معرفی کرده است [۴]. چربی خون بالا خطر ابتلا به بسیاری از بیماری ها را افزایش می دهد [۵]. یافته ها نشان از ارتباط میان کلسترول بالا با بسیاری از بیماری ها همچون تصلب شرایین [۶]، سکته مغزی [۷]، بیماری های قلبی عروقی [۸] و نیز برخی سرطان ها [۹] دارد. افزایش چربی پاسخ بدن را به انسولین تغییر می دهد و بالقوه منجر به مقاومت به انسولین می گردد. همچنین سطح چربی خون با احتمال ابتلا به برخی عوامل بیماری زا مانند هلیکوباکتر، ویروس ایدز و پرئونها در ارتباط است [۱۰]. گزارش ها نشان داده که ۵۴ درصد از جمعیت اروپا، ۴۸ درصد از جمعیت آمریکا و ۲۹ درصد از جمعیت جنوب شرق آسیا و ۲۲ درصد از جمعیت آفریقا کلسترول بالا دارند. همچنین مطالعات در مورد ایران نشان داده است که ۶۷/۶ درصد افراد دارای کلسترول بالا، ۶۷/۰ درصد دارای تری گلیسرید بالا، ۳۵/۵ درصد دارای کلسترول بد (لیپوپروتئین با چگالی پایین یا LDL^۱) بالا بوده و ۴۳/۹ درصد افراد کلسترول مفید (لیپوپروتئین با چگالی بالا یا HDL^۲) پایین دارند [۱۱]. چربی خون بالا یک اختلال چند عاملی، حاصل عوامل ژنتیکی و محیطی است و تخمین زده می شود که سهم وراثت در بروز آن، ۴۰ تا ۶۰ درصد است [۱۲]. اما عوامل تغذیه ای و عوامل محیطی، نظیر فعالیت بدنی می توانند حساسیت ژنتیکی افراد را در بروز چربی خون را تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین، بررسی تداخل بین عوامل محیطی و ژن های دخیل در چربی خون در طراحی برنامه های پیش گیری بسیار حائز اهمیت است [۱۳]. کلسترول یک ماده چرب و چربی مانند است. بعضی از هورمون های بدن از کلسترول ساخته شده است و یک بخش حیاتی

از دیواره خارجی (غشای) تمامی سلول های بدن انسان است. تنها یک سوم از کلسترول بدن از طریق رژیم غذایی تامین می شود و دو سوم بقیه توسط کبد تولید می شود. افزایش LDL خون با تجمع در دیواره رگ ها، تنگی آنها را به دنبال دارد و به همین دلیل باعث افزایش خطر ابتلا به سکته مغزی، درد قفسه سینه و گرفتگی عروق می شود. درمان به موقع و مناسب افزایش چربی خون، نه تنها قادر است از تنگی عروق قلبی جلوگیری کند، بلکه می تواند از پیشرفت آن نیز جلوگیری کرده و حتی باعث بهبود آن شود. لیپوپروتئین با چگالی پایین از مقدار ۱۳۰ میلی گرم/دسی لیتر به بالا، به عنوان LDL بالا در نظر گرفته می شود. افزایش سطح LDL با افزایش مرگ و میر مرتبط است و خطر بیماری های قلبی عروقی را افزایش می دهد [۱۴]. ۴۰ تا ۶۰ درصد از سطح لیپوپروتئین، ژنتیکی است. مطالعات صدها ژن دخیل در تنظیم چربی های خون را مشخص کرده اند. این ژن ها در تعیین سطح کلسترول پلاسما نقش دارند. کلسترول پلاسما به تفکیک شامل تری گلیسریدها، لیپوپروتئین با چگالی پایین و لیپوپروتئین با چگالی بالا است. در بیشتر موارد از برهم کنش چندین ژن این ویژگی های فنوتیپی پیچیده ایجاد می شود. البته در موارد نادری هم یک ژن می تواند به صورت تک ژنی این فنوتیپ ها را نشان دهد. تعیین تأثیرات ژنتیکی بر روی بیماری های انسانی دشوار است، زیرا تفکیک عوامل محیطی از عوامل ژنتیکی مؤثر بر روی بیماری ها تا حدودی مشکل است. به نظر می رسد که تعداد بسیاری از ژن ها، هر یک با اثرات جزئی در این امر دخالت داشته باشند [۱۵]. از مواردی که یک ژن باعث بروز بیماری می شود می توان به بیماری هایپرکلسترومی خانوادگی اشاره کرد. جهش در یکی از دو ژن *LDLR* یا *APOB* می تواند باعث بروز این بیماری شود [۱۶]. ژن کدکننده پروتئین واکنشگر C بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱ و در ناحیه ۲۳ قرار دارد. پروتئین واکنشگر C انسانی (CRP)^۳، یک پروتئین پتامری حلقوی است که طی التهاب، توسط کبد ساخته شده و چند ساعت پس از آسیب بافتی یا شروع عفونت و التهاب به گردش خون آزاد می شود [۱۷]. rs1205 یکی از پلی مورفیسم های ژن CRP است که باعث تغییر نوکلئوتید C به T شده و یکی از فاکتورهای خطر برای ابتلا به LDL بالا است [۱۸]. نقش این پلی مورفیسم در اضافه وزن و نمایه توده بدنی ثابت شده و افراد با ژنوتیپ CC دارای نمایه توده بدنی بالاتر، دور کمر بیشتر و درصد چربی بدن بالاتری بوده اند [۱۹]. یکی از بهترین رویکردها برای مطالعه بیماری های پیچیده و چندعاملی مانند چربی و کلسترول بالا، که برونشان بستگی به چندین ژن به همراه فاکتورهای محیطی دارد

³ C-reactive protein¹ Low-density lipoprotein² High-density lipoprotein

کیفیت DNA جدا شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری و ژل آگارز سنجیده شد.

بررسی کیفی و کمی DNA استخراج شده از خون محیطی: به منظور ارزیابی کیفی DNA از روش ژل الکتروفورز و جهت ارزیابی کمی DNA و آگاهی از میزان غلظت و خلوص آن از روش اسپکتروفتومتری (نسبت طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر) استفاده شد.

تکنیک ARMS PCR: یک روش به صافه و با دقت بالا جهت تشخیص پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی است. ژنوم موجودات به‌طور طبیعی دارای تفاوت‌هایی در توالی بازهای هستند، این تغییرات طبیعی که سبب گوناگونی در افراد یک جمعیت می‌شود، چندشکلی ژنتیکی (پلی مورفیسم یا جهش) نام دارد. جهش‌ها از طرق مختلفی می‌توانند سبب تغییر در فنوتیپ اصلی و بروز صفات جدید مانند بیماری یا سرطان گردند. در روش Tetra ARMS PCR می‌توان با طراحی پرایمرهای اختصاصی برای پلی مورفیسم مورد نظر، وجود جهش را تشخیص داد. روش ARMS-PCR برای تشخیص موتاسیون‌های نقطه‌ای به کار می‌رود و از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود.

طراحی پرایمر و انجام PCR: برای بررسی پلی مورفیسم rs1205 و تشخیص پلی مورفیسم از روش Tetra ARMS PCR استفاده شد. برای انجام PCR دو جفت پرایمر با توالی‌های معرفی شده در جدول ۱ با استفاده از برنامه oligo7 طراحی گردید و از طریق سایت NCBI بلاست (Blast) شد. Tm مورد نظر برای پرایمرها ۶۳ درجه است. برنامه حرارتی و زمان‌بندی دستگاه ترموسایکلر براساس جدول ۲ انجام شد.

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. چنانچه شیوع در دو گروه تفاوت معناداری داشته باشد، برای ارتباط مثبت یا منفی شواهدی ارائه می‌شود [۲۰]. از آنجاکه احتمال می‌رود پلی مورفیسم rs1205 یکی از عوامل خطر برای LDL بالا باشد، این پژوهش با هدف بررسی میزان شیوع و ارتباط پلی مورفیسم rs1205 با احتمال ابتلا به LDL بالا در جمعیت ایرانی انجام شد.

روش‌ها

جامعه مورد مطالعه: این تحقیق در سال ۱۳۹۸ و به صورت موردی-شاهدی انجام شد. به منظور بررسی پلی مورفیسم RS1205 در ژن کدکننده پروتئین واکنشگر C (CRP)، نمونه‌گیری بین زنان و مردان، در محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ ساله با رعایت قوانین اخلاقی و گرفتن رضایت‌نامه از آنها انجام شد. سپس پرسشنامه‌ای که در آن اطلاعاتی از قبیل سن، جنس، سطح LDL خون، قد، وزن، نمایه توده بدنی^۱ (BMI)، سابقه چاقی خانوادگی داشتن و هرگونه رژیم غذایی بود در اختیار آنان قرار گرفت. معیار انتخاب افراد در این تحقیق سطح LDL خون افراد بود. همچنین اطلاعات دیگری مانند BMI و سابقه چاقی خانوادگی از شرکت‌کنندگان در این تحقیق پرسیده شد. تعداد کل نمونه‌ها ۱۳۷ نفر شامل ۷۹ نفر شاهد و ۵۸ نفر نمونه بود. افرادی که LDL آنها بالاتر از ۱۳۰ میلی گرم/دسی لیتر بود به عنوان نمونه یا بیمار و افرادی که LDL پایین تر از ۱۳۰ میلی گرم/دسی لیتر داشتند به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. مقدار ۵ سی سی خون از نمونه‌ها گرفته شد و در لوله‌های حاوی ضد انعقاد خون EDTA ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش به فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد منتقل گردید.

استخراج DNA از خون: استخراج از نمونه خون گرفته شده از نمونه‌ها و به وسیله کیت آماده استخراج DNA انجام شد. غلظت و

جدول ۱- توالی پرایمرها برای پلی مورفیسم مورد نظر

پرایمرها	ترادف (۳' → ۵')
Forward outer primer	AAGTAAACAGGGGCTTTATTGGCT
Forward inner primer (T allele)	TTCCAGTTTGGCTTCTGTCTAAT
Reverse outer primer	GAGACATCTTCTTGCTGCTGGAT
Reverse inner primer (C allele)	TTTGCCACATGGAGAGAGAATG

¹ Body mass index

جدول ۲- برنامه حرارتی و زمان بندی دستگاه ترموسایکلر برای انجام واکنش (PCR)			
نام زیر مرحله	دما (درجه سانتی گراد)	زمان	تعداد چرخه
واسرشته سازی اولیه (Denaturation)	۹۴	۵ دقیقه	۱ چرخه
واسرشته سازی اولیه (Denaturation)	۹۴		
اتصال (Annealing)	۶۳	۳۰ ثانیه	۳۵ چرخه
توسعه (Extention)	۷۲		
توسعه نهایی (Extention)	۷۲	۴ دقیقه	۱ چرخه

توصیفی و استنباطی استفاده شد. در سطح آمار توصیفی از جدول توزیع فراوانی و نمودار فراوانی، درصد، میانگین، انحراف معیار و در سطح آمار استنباطی، ضریب همبستگی، تجزیه واریانس، آزمون T و آزمون مربع کای استفاده شد. سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

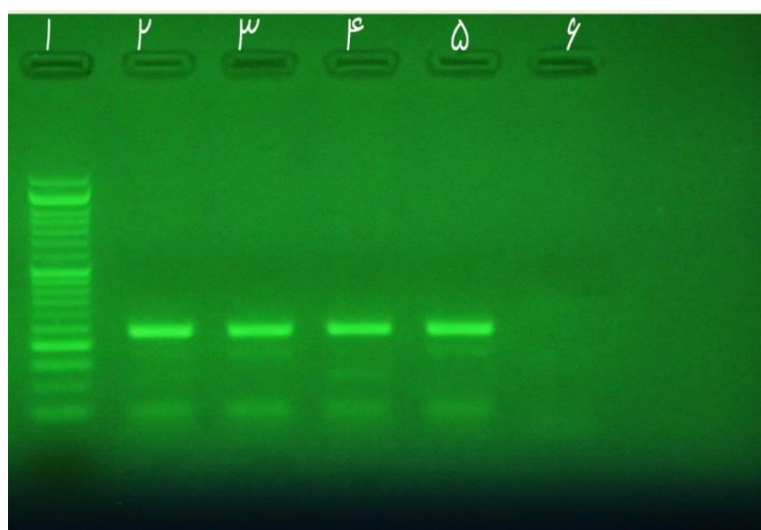
یافته‌ها

کیفیت DNA استخراج شده و PCR نمونه‌ها

نتایج اسپکتروفتومتر نشان داد که غلظت تمام نمونه‌ها بالا بوده و جذب نوری بین $1/7$ تا $1/9$ بوده است. طول قطعه تکثیر شده توسط پرایمرهای خارجی، ۲۴۴ جفت باز است. طول پرایمرهای داخلی برای نوکلئوتید T، ۱۱۶ و برای نوکلئوتید C، ۱۷۴ جفت باز است. در شکل ۱ محصول Tetra-primer ARMS-PCR مشاهده می‌شود.

الکتروفورز ژل آگارز: بعد از انجام PCR برای صحت انجام کار، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد انجام شد. نمونه با مقداری از رنگ نشانگر (Loding buffer) مخلوط می‌شود. پس از انجام الکتروفورز برای مشاهده DNA از ژل، عکس برداری شد. مارکر مورد استفاده، دارای اندازه مولکولی DNA ladder 50bp برای مشخص کردن طیف گسترده‌ای از باندها با اندازه‌های مختلف در این آزمایش استفاده شد. در ژن فوق آل طبیعی حاوی نوکلئوتید G است که در اثر جهش آل A ایجاد می‌شود. با استفاده از تکنیک ARMS-PCR می‌توان این دو آل را از هم تشخیص داد. برای تکثیر دو ناحیه جهش به یک جفت پرایمر نیاز است که پرایمر فرورارد بیرونی (outer forward) و پرایمر معکوس بیرونی (outer reverse) نامیده می‌شوند. جفت پرایمر فوق برای هر دو آل مشترک می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: از نرم افزار SPSS در دو سطح آمار



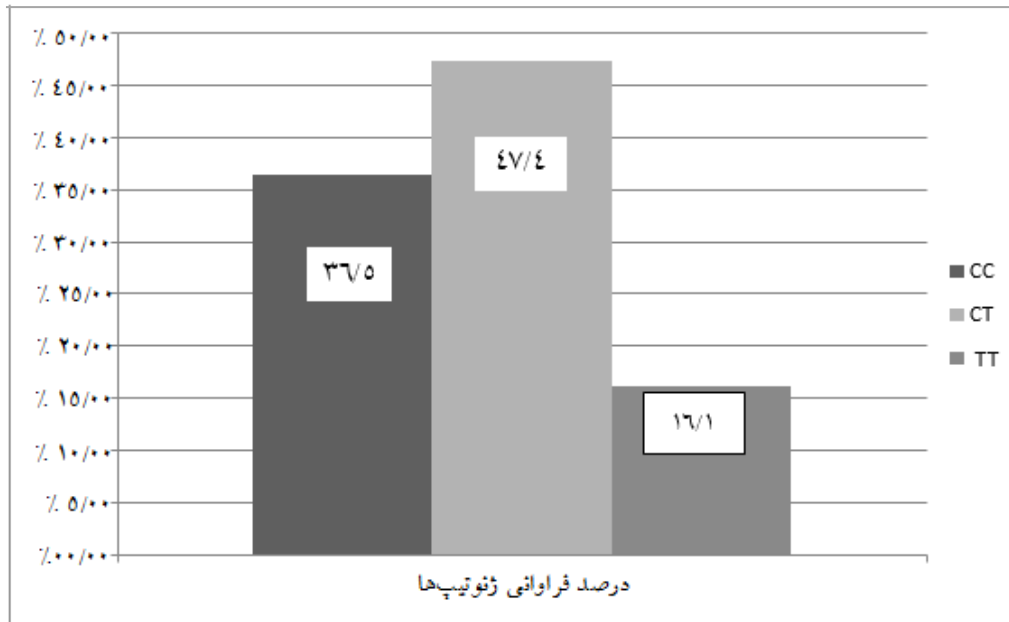
شکل ۱- محصولات تکثیر DNA با روش Tetra-primer ARMS-PCR

ردیف ۱ لدر ۵۰bp، ردیف ۲ هتروزیگوت CT با طول باندهای ۲۴۴ (پرایمرهای خارجی)، ۱۱۶ و ۱۷۴، ردیف ۳ و ۵ هموزیگوت CC با طول باندهای ۲۴۴ و ۱۷۴ جفت باز، ردیف ۴ هموزیگوت TT با طول باندهای ۲۴۴ و ۱۷۴ جفت باز، ردیف ۶ کنترل منفی

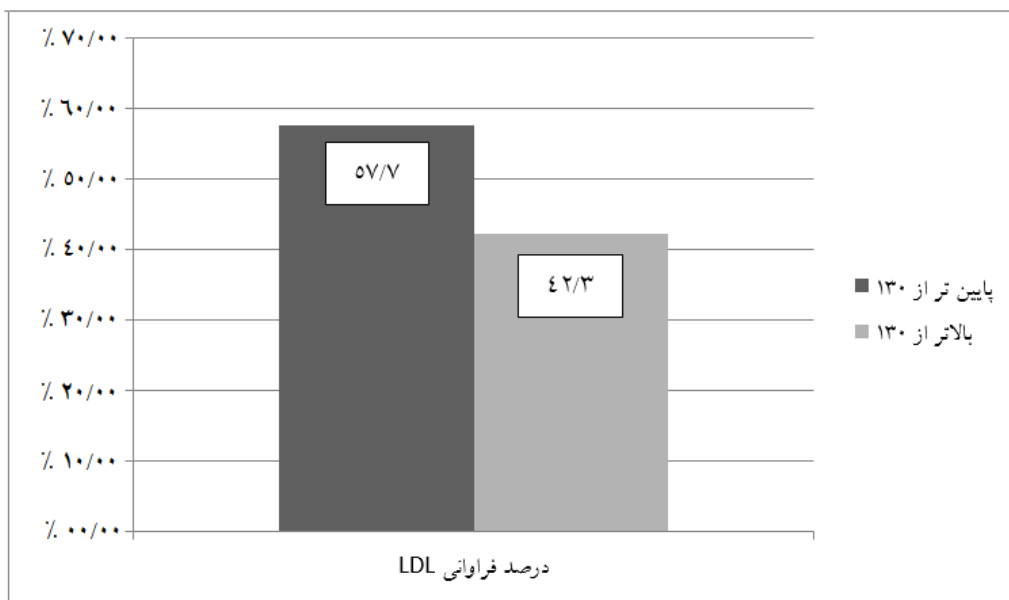
آمار توصیفی

ژنوتیپ CT معادل ۴۷/۴ درصد، ژنوتیپ CC معادل ۳۶/۵ درصد و ژنوتیپ TT معادل ۱۶/۱ درصد است (نمودار ۱). ۵۷/۷ درصد از نمونه‌ها، LDL پایین‌تر از ۱۳۰ و ۴۲/۳ درصد آنها، LDL بالاتر از ۱۳۰ داشتند (نمودار ۲).

۶۰/۶ درصد نمونه‌ها مرد و ۳۹/۴ درصد آنها زن بودند. ۵۶/۲ درصد از نمونه‌ها، BMI پایین‌تر از ۲۵ و ۴۳/۸ درصد آنها، BMI بالاتر از ۲۵ داشتند. درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها نشان داد که



نمودار ۱- درصد فراوانی ژنوتیپ در جمعیت مورد مطالعه، C: سیتوزین، T: تیمین



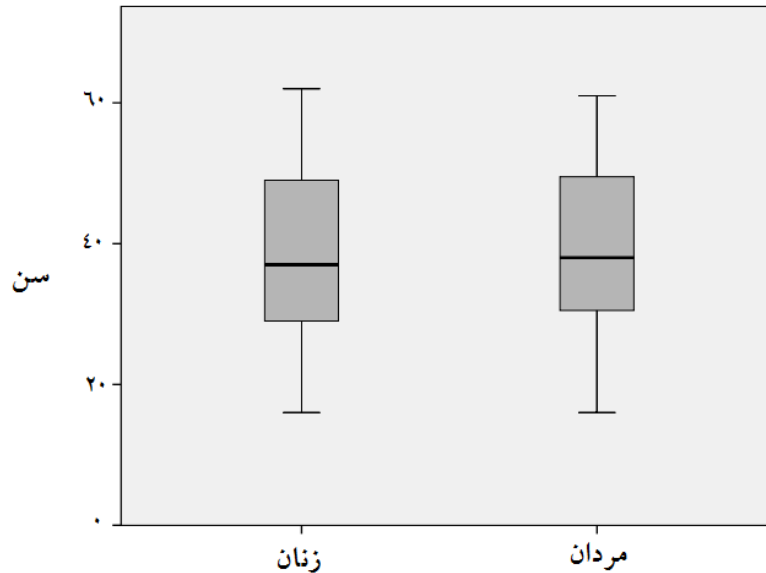
نمودار ۲- درصد فراوانی سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در جمعیت مورد مطالعه

من - ویتنی نشان داد که اختلاف سنی معناداری بین دو گروه وجود ندارد (نمودار ۳).

مقایسه سن بین دو گروه
جدول ۳ آمار توصیفی متغیر سن را نشان می‌دهد. نتایج آزمون

جدول ۳- آمار توصیفی متغیر سن

تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمترین	بالاترین
۱۳۷	۳۹/۳	۱۲/۰	۱۶/۰	۶۲/۰



نمودار ۳- فراوانی نمونه‌ها از نظر جنسیت بر حسب سن

گروه افراد با LDL نرمال

در جدول ۴ تعداد هر یک از ژنوتیپ‌ها و فراوانی‌های مربوط به آنها در گروه افراد با LDL نرمال آمده است. در جدول ۵، آنالیز آماری میزان LDL برای هر ژنوتیپ به صورت جداگانه

آورد شده است. آزمون دانکن و تست Post Hoc برای وابستگی این ژنوتیپ‌ها با میزان LDL نشان داد که اختلاف این ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نیست ($P=0/374$). تجزیه واریانس میزان LDL ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد، ژنوتیپ‌ها با LDL رابطه معنی‌دار نداشته‌اند.

جدول ۴- توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های شاهد در آزمایش

ژنوتیپ	فراوانی ساده	درصد فراوانی	فراوانی تراکمی
CC	۵۰	۳۶/۵	۳۶/۵
CT	۶۵	۴۷/۴	۸۳/۹
TT	۲۲	۱۶/۱	۱۰۰
کل	۷۷	۱۰۰	

جدول ۵- آنالیز آماری ژنوتیپ‌ها

ژنوتیپ	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد	سطح احتمال ۹۵٪		حداقل	حداکثر
					حد پایین	حد بالا		
CC	۵۰	۱۱۳/۲	۳۳/۹	۴/۸	۱۰۳/۶	۱۲۲/۹	۵۵/۰	۱۷۴/۰
CT	۶۵	۱۱۱/۳	۳۹/۱	۴/۸	۱۰۱/۶	۱۲۱/۰۴	۵۴/۰	۱۷۷/۰
TT	۲۲	۱۰۵/۳	۲۹/۴	۶/۲	۹۲/۲	۱۱۸/۳	۵۸/۰	۱۵۲/۰
مجموع	۱۳۷	۱۱۱/۰	۳۵/۷	۳/۰	۱۰۵/۰	۱۱۷/۱	۵۴/۰	۱۷۷/۰

فراوانی و ارتباط ژنوتیپ‌ها با سطح LDL

با LDL نرمال و LDL بالاتر از ۱۳۰ مشاهده می‌شود.

در جدول ۶ فراوانی، و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه

جدول ۶- درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه

گروه	CC	CT	TT	مجموع
LDL نرمال	۲۹	۳۶	۱۴	۷۹
	درصد فراوانی	۳۶/۷	۴۵/۶	۱۷/۷
LDL بالاتر از ۱۳۰	۲۱	۲۹	۸	۵۸
	درصد فراوانی	۳۶/۲	۵۰	۱۳/۸
مجموع	۵۰	۶۵	۲۲	۱۳۷
	درصد فراوانی	۴۷/۴	۴۷/۴	۱۶/۱

LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین، C: سیتوزین، T: تیمین

فراوانی و ارتباط ژنوتیپ‌ها با سطح LDL بر حسب جنسیت

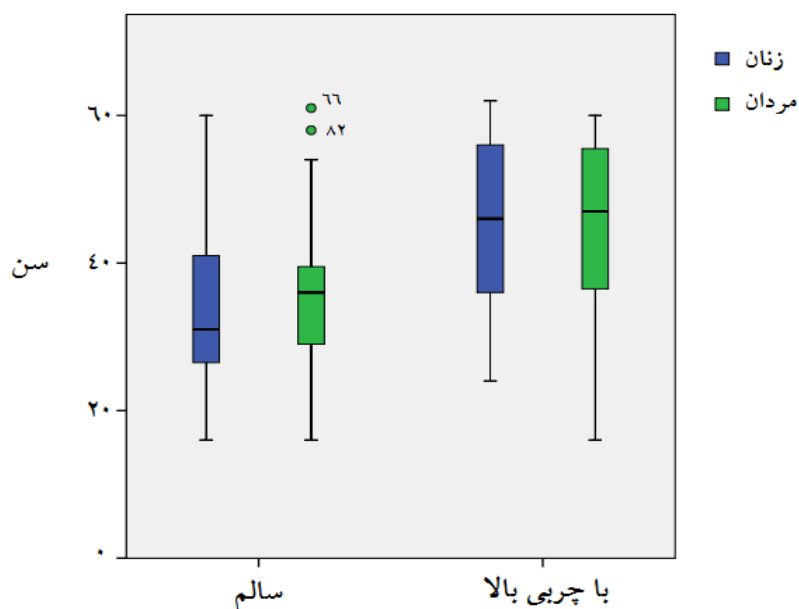
در جدول ۷ فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰ به تفکیک بر حسب جنسیت مشاهده می‌شود. با توجه به این که مقدار Asymp. Sig.

(دوطرفه) برای گروه با جنسیت زن، ۰/۷۰۱ و برای گروه با جنسیت مرد، ۰/۷۲۹ است و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ $P <$ است، پس اختلاف فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه با LDL نرمال و گروه با LDL بالاتر از ۱۳۰، در دو جنس معنادار نیست (نمودار ۴).

جدول ۷- فراوانی و درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه با تفکیک بر حسب جنسیت

جنسیت	LDL	ژنوتیپ‌ها			مجموع
		TT	CT	CC	
زن	نرمال	تعداد	۱۳	۱۴	۵
		درصد فراوانی	۴۰/۶	۴۳/۸	۱۵/۶
	بالتر از ۱۳۰	تعداد	۱۱	۹	۲
		درصد فراوانی	۵۰/۰	۴۰/۹	۹/۱
	مجموع	تعداد	۲۴	۲۳	۷
		درصد فراوانی	۴۴/۴	۴۲/۶	۱۳/۰
مرد	نرمال	تعداد	۱۶	۲۲	۹
		درصد فراوانی	۳۴/۰	۴۶/۸	۱۹/۱
	بالتر از ۱۳۰	تعداد	۱۰	۲۰	۶
		درصد فراوانی	۲۷/۸	۵۵/۶	۱۶/۷
	مجموع	تعداد	۲۶	۴۲	۱۵
		درصد فراوانی	۳۱/۳	۵۰/۶	۱۸/۱

LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین، C: سیتوزین، T: تیمین



نمودار ۴- مقایسه فراوانی افراد نرمال و افراد با LDL بالاتر از ۱۳۰ بر حسب سن و با تفکیک جنسیت

Fat: سطح LDL سرم، با چربی بالا: افراد با LDL بالاتر از ۱۳۰، سالم: افراد با LDL پایین تر از ۱۳۰

بحث

سلامتی محسوب می‌شود. به‌طوری‌که بین سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۳ از هر چهار مرگ، یکی بر اثر بیماری‌های قلبی بوده است. یکی از

بیماری‌های قلبی ناشی از چربی خون بالا یکی از مشکلات اصلی

اصلی ترین عوامل ابتلا به بیماری های قلبی، چربی خون بالا است [۲۱]. مطالعات نشان داده است، ۵۴ درصد از جمعیت اروپا، ۴۸ درصد از جمعیت آمریکا و ۲۹ درصد از جمعیت جنوب شرق آسیا و ۲۲ درصد از جمعیت آفریقا کلسترول بالا دارند. همچنین طبق آخرین تحقیقات که توسط WHO انجام شده حدود ۴۱ درصد از جمعیت ایران هم کلسترول بالا (>200 کلسترول تام) دارند [۲۲]. در یک مطالعه جامع مروری که ۳۲ مقاله و ۶۶۲۴۰ نفر را شامل می شد، ژن های مسئول سطح چربی خون به تفکیک نشان داده شدند. این یکی از جامع ترین مطالعات بود که در سال ۲۰۱۲ توسط Asselbergs و همکاران انجام شد. آنها با استفاده از مطالعات گسترده ارتباطی ژنومی (GWAS)، ارتباط میان ۲۰۰۰ پلی مورفیسم را با شاخص های مختلف چربی خون مشخص کردند [۲۳]. این مطالعات این امید را به وجود آورده اند که بتوان با شناخت بهتر این پلی مورفیسم ها، روش های مؤثرتری جهت درمان و پیشگیری از چربی خون بالا یافت. همچنین نشان دادند یکی از ژن های کاندید برای بررسی ارتباط با سطح کلسترول سرم، CRP و پلی مورفیسم های این ژن است. یکی از ژن هایی که ارتباط آن با سطح چربی سرم مورد بررسی قرار گرفته است، CRP و پلی مورفیسم rs1205 در این ژن است. Todendi و همکاران ارتباط بین پلی مورفیسم rs1205 و چاقی و سطح چربی سرم را در جمعیت برزیل مطالعه کردند. نتایج آنها نشان داد که این پلی مورفیسم با افزایش کلسترول خون در افراد ۷ تا ۱۷ سال ارتباط دارد. این تحقیق ارتباط سه پلی مورفیسم rs1205، rs1800795 و rs2069845 را با سندرم های متابولیک در کودکان و بزرگسالان تایید کرده است [۲۴]. نتایج مطالعه دیگری در نگراس نشان داد که rs1205 با سطح تری گلیسرید و میزان قند خون در ارتباط است. در این مطالعه ارتباطی بین پلی مورفیسم rs1205 و چاقی مشاهده نشد. در این مطالعه هفت پلی مورفیسم جهت ارتباط با اضافه وزن و ویژگی های متابولیک بررسی شد [۲۵]. در سال ۲۰۱۲، Martínez-Calleja و همکاران پلی مورفیسم های مختلف ژن CRP و ارتباط آنها با دیابت نوع دو و بیماری های قلبی-عروقی را مطالعه کردند. این مطالعه که بر روی ۴۰۲ نفر و در مکزیک انجام شد، نشان داد که سطح CRP خون با بیماری های قلبی در ارتباط است. اما ارتباطی میان پلی مورفیسم rs1205 و اضافه وزن و شانس ابتلا به بیماری های قلبی مشاهده نشد [۲۶]. عوامل ژنتیکی چربی خون بالا، که اغلب پلی مورفیسم ها هستند، در بیشتر مواقع اختصاص به جمعیت خاصی ندارند. با توجه به فراوانی بالای چربی خون در جامعه، لزوم مطالعات وسیع بر روی آن، برای شناسایی عوامل ژنتیکی و محیطی این بیماری، بیش از پیش احساس می شود. در این مطالعه، ما به بررسی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1205 در ژن CRP و ارتباط آن با لیپوپروتئین با چگالی

پایین (LDL) بالاتر از ۱۳۰ در جمعیت ایران پرداختیم. بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین در جمعیت های مختلف، می تواند منجر به نشان دادن اثر این پلی مورفیسم بر سطح چربی خون شود. rs1205 یکی از پلی مورفیسم های ژن CRP است. این پلی مورفیسم باعث تغییر نوکلئوتید C به T می شود. آلل C باعث افزایش سطح CRP می گردد [۲۷]. در سال ۲۰۱۷ ارتباط این پلی مورفیسم با سطح CRP بررسی شد و نتایج نشان دادند که آلل C باعث افزایش سطح CRP می گردد. همچنین آلل C با تست تحمل گلوکوز در ارتباط بود [۲۸]. نقش این پلی مورفیسم در اضافه وزن و نمایه توده بدنی هم بررسی شده است. نتایج تحقیقات نشان داده که افراد با ژنوتیپ CC نمایه توده بدنی بالاتر، دور کمر بیشتر و درصد چربی بدنشان هم بالاتر است [۲۹]. به این ترتیب و با توجه به مطالب ارائه شده، بیشتر تحقیقات آلل C را به عنوان ریسک آلل نشان دادند. هرچند ارتباط این آلل با LDL در برخی مطالعات رد شده است که این تناقض ممکن است به خاطر تفاوت در جمعیت های مورد مطالعه یا تأثیر فاکتورهای محیطی باشد. سطح CRP و پلی مورفیسم rs1205 و ارتباط آنها با فشار خون، چربی خون، انسولین و اضافه وزن روی ۳۲۷ نمونه بررسی شد. نتایج نشان داد که سطح CRP و سطح انسولین باهم ارتباط معنی داری دارند. این مطالعه نشان داد که سطح CRP با فاکتورهای مهم سلامتی مانند اضافه وزن، چربی خون و فشار خون، HDL و قند خون در ارتباط است [۳۰]. سطح کلسترول، LDL و CRP را می توان به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای ابتلا به بیماری های قلبی در نظر گرفت. نتایج یک مطالعه نشان داد که بالا بودن سطح CRP احتمال بیماری های قلبی را ۳ برابر افزایش می دهد [۳۱]. به این ترتیب به نظر می رسد که سطح CRP و انواع کلسترول از جمله LDL با هم در ارتباط باشند. بنابراین ژن هایی هم که در تنظیم میزان CRP نقش دارند، می توانند بر روی مواردی مانند سطح LDL تأثیر داشته باشند. پلی مورفیسم rs1205 یکی از پلی مورفیسم های ژن CRP است که نقش آن در تنظیم سطح CRP مشخص شده است. با توجه به مطالب گفته شده، ما در این این پژوهش اثر پلی مورفیسم rs1205 را بر روی سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) مطالعه کردیم. مطالعه ای که بر روی ۱۳۷ بیمار قلبی-عروقی در روسیه انجام شد، ارتباط معنادار قوی ($P=0.003$) بین سطح لیپوپروتئین با چگالی کم و پلی مورفیسم rs1205 در ژن CRP را نشان داد. همچنین این پلی مورفیسم با ابتلا به بیماری های قلبی هم در ارتباط بود [۳۲]. در برخی مطالعات، ارتباطی بین rs1205 و بیماری های قلبی مشاهده نشده [۲۶]. درحالی که در مطالعه روی جمعیت روسیه ارتباط معناداری گزارش شده است [۳۲]. ممکن است عواملی مانند تفاوت در نژاد، سبک زندگی، یا اندازه نمونه دلیل

جمعیت مورد مطالعه در تعادل هاردی-واینبرگ بوده است. سازکارهای احتمالی که چگونه پلی مورفیسم های CRP ممکن است بر متابولیسم لیپیدها تأثیر بگذارند به طور شفاف مشخص نیست اما ممکن است از طریق تأثیر بر التهاب سیستمیک یا اختلال در عملکرد گیرنده های LDL در کبد در این امر دخالت داشته باشند. همچنین ممکن است پلی مورفیسم های CRP با مهار آنزیم لیپوپروتئین لیپاز در تجزیه ذرات لیپوپروتئینی غنی از تری گلیسیرید تداخل ایجاد کند. از آنجا که در بیشتر مطالعات قبلی (که عمدتاً در جمعیت های اروپایی بوده) ارتباط معناداری بین قومیت و نتایج حاصله مشاهده شده بود، پس عدم تفاوت در قومیت می تواند یکی از دلایل احتمالی معنادار نبودن نتایج این مطالعه باشد. همچنین با توجه به اینکه مطالعات محدودی ارتباط میان این پلی مورفیسم و LDL را بررسی کرده اند، بنابراین ممکن است قومیت بر نتایج چنین تحقیقاتی تأثیر داشته باشد و برای نشان دادن تأثیر قطعی این پلی مورفیسم بر چربی های سرم، باید چنین مطالعاتی با تعداد بیشتر و در جمعیت های مختلف تکرار شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد و هیچگونه حمایت مالی برای این پژوهش دریافت نشده است.

سپاسگزاری

از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش یاری رسانیده اند تشکر و قدردانی می شود.

این تناقض باشند. در یک مطالعه متاآنالیز گسترده که با روش GWAS انجام شد، ۹۵ پلی مورفیسم که بر سطح چربی خون تأثیر گذار بودند شناسایی شد 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 می شد [۳۳]. با وجود گستردگی تحقیق، تعداد زیادی از پلی مورفیسم های مربوط به سطح چربی پلاسما همچنان ناشناخته باقی مانده اند [۳۴]. ارتباط پلی مورفیسم rs1205 با بیماری های مختلفی بررسی شده و نتایج مختلفی بدست آمده است. به عنوان مثال بعضی از مطالعات آلل T را به عنوان آلل ریسک و برخی از مطالعات، آلل C را مرتبط با بروز بیماری گزارش کرده اند [۳۵، ۳۶]. از محدودیت های تحقیق، کوچک بودن نمونه ها (۱۳۷ نفر) بوده که ممکن است بر اعتبار نتایج تأثیر گذاشته باشد. همچنین نقش فاکتورهای مخدوشگر مانند نمایه توده بدنی (BMI)، سن، رژیم غذایی، فعالیت بدنی، یا مصرف داروهای کاهنده چربی خون (مانند استاتین ها) که ممکن است بر سطح LDL تأثیر بگذارند نیز باید در نظر گرفته شوند. نتایج مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم rs1205 و سطح LDL بالای ۱۳۰ را در جمعیت مورد مطالعه نشان نداد که دلیل آن می تواند کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه و خطای نمونه گیری باشد. تفاوت معناداری بین پلی مورفیسم rs1205 و سطح LDL بالای ۱۳۰ براساس جنسیت نیز مشاهده نشد. لازم به ذکر است در مورد ارتباط rs1205 با LDL هیچ مطالعه ای در خاورمیانه یافت نشد.

نتیجه گیری

درحالی که بسیاری از نتایج قبلی ارتباط پلی مورفیسم rs1205 را با بیماری های مختلف نشان داده بودند اما نتایج این مطالعه ارتباطی میان پلی مورفیسم rs1205 و سطح LDL نشان نداد. لازم به ذکر است

References

- Duan Y, Gong K, Xu S, Zhang F, Meng X, Han J. Regulation of cholesterol homeostasis in health and diseases: from mechanisms to targeted therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2022; 7(1):265.
- Harshfield EL, Koulman A, Ziemek D, Marney L, Fauman EB, Paul DS, et al. An unbiased lipid phenotyping approach to study the genetic determinants of lipids and their association with coronary heart disease risk factors. *J Proteome Res.* 2019; 18(6):2397-2410.
- Trinder M, Walley KR, Boyd JH, Brunham LR. Causal Inference for Genetically Determined Levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol and Risk of Infectious Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020; 40(1):267-78.
- Venkitachalam L, Wang K, Porath A, Corbalan R, Hirsch AT, Cohen DJ, et al. Global variation in the prevalence of elevated cholesterol in outpatients with established vascular disease or 3 cardiovascular risk factors according to national indices of economic development and health system performance. *Circulation.* 2012; 125(15):1858-69.
- Pokharel Y, Sharma PP, Qintar M, Lu Y, Tang Y, Jones P, et al. High-sensitivity C-reactive protein levels and health status outcomes after myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2017; 266:16-23.
- Feig JE, Hewing B, Smith JD, Hazen SL, Fisher EA. High-density lipoprotein and atherosclerosis regression: evidence from preclinical and clinical studies. *Circ Res.* 2014; 114:205-13.
- Bashir B, Ho JH, Downie P, Hamilton P, Ferns G, Datta D, et al. Severe Hypertriglyceridaemia and Chylomicronaemia Syndrome-Causes, Clinical Presentation, and Therapeutic Options. *Metabolites.* 2023;13(5):621.

8. Zhuang Q, Shen C, Chen Y, Zhao X, Wei P, Sun J, et al. Association of high sensitive C-reactive protein with coronary heart disease: A mendelian randomization study. *BMC Med Genet*. 2019; 20(1):170.
9. Cruz PM, Mo H, McConathy WJ, Sabnis N, Lacko AG. The role of cholesterol metabolism and cholesterol transport in carcinogenesis: a review of scientific findings, relevant to future cancer therapeutics. *Front Pharmacol*. 2013; 4:119.
10. Dubrovsky L, Van Duyne R, Senina S, Guendel I, Pushkarsky T, Sviridov D, et al. Liver X receptor agonist inhibits HIV-1 replication and prevents HIV-induced reduction of plasma HDL in humanized mouse model of HIV infection. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 419(1):95-8.
11. Tabatabaei-Malazy O, Qorbani M, Samavat T, Sharifi F, Larijani B, Fakhrzadeh H. Prevalence of dyslipidemia in iran: a systematic review and meta-analysis study. *Int J Prev Med*. 2014; 5(4):373-93.
12. Melmed S, Polonsky K, Larsen PR, Kronenberg H. *Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)*, Elsevier India, 2016; 1936 p.
13. Gjuladin-Hellon T, Davies IG, Penson P, Amiri Baghbadorani R. Effects of carbohydrate-restricted diets on low-density lipoprotein cholesterol levels in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 2019; 77(3):161-80.
14. Jeong SM, Choi S, Kim K, Kim SM, Lee G, Son JS, et al. Association of change in total cholesterol level with mortality: A population-based study. *PLoS One*. 2018; 13(4):e0196030.
15. Garcia-Giustiniani D, Stein R. Genetics of Dyslipidemia. *Arq Bras Cardiol*. 2016; 106(5):434-8.
16. Vrablik M, Tichý L, Freiburger T, Blaha V, Satny M, Hubacek JA. Genetics of familial hypercholesterolemia: New insights. *Front Genet*. 2020; 11:574474.
17. Li QY, Lv JM, Liu XL, Li HY, Yu F. Association of C-reactive protein and complement factor H gene polymorphisms with risk of lupus nephritis in Chinese population. *World J Clin Cases*. 2023; 11(13):2934-44.
18. Fang D, Ye Y. C-reactive protein gene rs1205 polymorphism is not associated with the risk of colorectal cancer. *Biosci Rep*. 2017; 37(4):BSR20170872.
19. Shen J, Arnett DK, Parnell LD, Peacock JM, Lai CQ, Hixson JE, et al. Association of common C-reactive protein (CRP) gene polymorphisms with baseline plasma CRP levels and fenofibrate response: the GOLDN study. *Diabetes Care*. 2008; 31(5):910-5.
20. Kluss JH, Mamais A, Cookson MR. LRRK2 links genetic and sporadic Parkinson's disease. *Biochem Soc Trans*. 2019; 47(2):651-61.
21. Pan X, Mota S, Zhang B. Circadian clock regulation on lipid metabolism and metabolic diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1276:53-66.
22. NCD risk factors: Cholesterol. WHO, Available from: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/indicator-groups/indicator-group-details/GHO/-cholesterol---mean-cholesterol>
23. Asselbergs FW, Guo Y, van Iperen EP, Sivapalaratnam S, Tragante V, Lanktree MB, et al. Large-scale gene-centric meta-analysis across 32 studies identifies multiple lipid loci. *Am J Hum Genet*. 2012; 91(5):823-38.
24. Todendi PF, Klinger EI, Ferreira MB, Reuter CP, Burgos MS, Possuelo LG, et al. Association of IL-6 and CRP gene polymorphisms with obesity and metabolic disorders in children and adolescents. *An Acad Bras Cienc*. 2015; 87(2):915-24.
25. Duran-Gonzalez J, Ortiz I, Gonzales E, Ruiz N, Ortiz M, Gonzalez A, et al. Association Study of Candidate Gene Polymorphisms and Obesity in a Young Mexican-American Population from South Texas. *Archives of Medical Research*. 2011; 42(6):523-31.
26. Martínez-Calleja A, Quiróz-Vargas I, Parra-Rojas I, Muñoz-Valle JF, Leyva-Vázquez MA, Fernández-Tilapa G, et al. Haplotypes in the CRP gene associated with increased BMI and levels of CRP in subjects with type 2 diabetes or obesity from Southwestern Mexico. *Exp Diabetes Res*. 2012; 2012:982683.
27. Sudhesan A, Rajappa M, Chandrashekar L, Ananthanarayanan PH, Thappa DM, Satheesh S, et al. Association of C-Reactive Protein (rs1205) Gene Polymorphism with Susceptibility to Psoriasis in South Indian Tamils. *J Clin Diagn Res*. 2016; 10(10):GC01-04.
28. Sheu WH, Wang WC, Wu KD, He CT, Hwu CM, Quertermous T, et al. CRP-level-associated polymorphism rs1205 within the CRP gene is associated with 2-hour glucose level: The SAPHIRE study. *Sci Rep*. 2017; 7(1):7987.
29. Lin FH, Chu NF, Lee CH, Hung YJ, Wu DM. Combined effect of C-reactive protein gene SNP +2147 A/G and interleukin-6 receptor gene SNP rs2229238 C/T on anthropometric characteristics among school children in Taiwan. *International Journal of Obesity*. 2010; 35(4):587-94.
30. De Santis IP, Lindenau JD, Ramos RB, Silva TR, Casanova G, Oppermann K, et al. C-reactive protein gene rs1205 polymorphism is associated with low-grade chronic inflammation in postmenopausal women. *Womens Midlife Health*. 2020; 6:3.
31. Stumpf C, Sheriff A, Zimmermann S, Schaefauer L, Schlundt C, Raaz D, et al. C-reactive protein levels pre treated with coronary angioplasty. *Arch Med Sci*. 2017; 13(5):1086-93.
32. Naumov V, Gorokhova SG, Atkov OY, Muraseeva EV, Babikiova EA, Generozov EV, et al. P324 Circadian genes in the regulation of lipids in coronary artery disease. *Cardiovascular Research*. 2014; 103(1):S58-S59.
33. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466:707-13.
34. Schroor MM, Mokhtar FBA, Plat J, Mensink RP. Associations between SNPs in Intestinal Cholesterol Absorption and Endogenous Cholesterol Synthesis Genes with Cholesterol Metabolism. *Biomedicines*. 2021; 9(10):1475.
35. An SH, Lee KE, Chang BC, Gwak HS. Association of gene polymorphisms with the risk of warfarin bleeding complications at therapeutic INR in patients with mechanical cardiac valves. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2014; 39(3):314-318.
36. Slattery ML, Curtin K, Poole EM, Duggan DJ, Samowitz WS, Peters U, et al. Genetic variation in C-reactive protein dict systolic heart failure and outcome in patients with first ST-elevation myocardial infarction in relation to colon and rectal cancer risk and survival. *Int J Cancer*. 2011; 128(11):2726-34.