

بررسی اثر ویتامین C بر سطح لیپوپروتئین های خون و بافت کبدی در خرگوش های نر تغذیه شده با رژیم پرکلسترول

رحیم گل محمدی^{*۱}، غلام رضا دشتی^۲، پرویز واحدی^۳

خلاصه

سابقه و هدف: یکی از مسائل بهداشتی امروز که سلامت عمومی را تهدید می کند، افزایش بیماری های قلب عروق و گوارشی در سراسر جهان می باشد. افزایش سطح سرمی کلسترول، هیپر لیپیدی و لیوپروتئین های اکسیده شده جزء فاکتورهای خطر محسوب می شوند. کبد به عنوان مهمترین غده در متابولیسم این مواد تاثیر می گذارد. از طرف دیگر اسید اسکوربیک در اکسیداسیون لیوپروتئین ها نقش بازدارنده دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ویتامین C بر سطح لیپوپروتئین های خون و بافت کبدی در خرگوش های نر تغذیه شده با رژیم پرکلسترول می باشد. **مواد و روش ها:** این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در چهل سر خرگوش نر سفید در دانشکده پزشکی اصفهان انجام گرفت. خرگوش ها پس از آشنایی با محیط جدید به صورت تصادفی به چهار گروه ده تایی تقسیم شدند (گروه شاهد، دریافت کننده اسید اسکوربیک، دریافت کننده کلسترول و گروهی که کلسترول را با اسید اسکوربیک دریافت می کردند). قبل از شروع تغذیه و همچنین پس از دریافت ۴۰ روز رژیم غذایی، نمونه های خون جهت اندازه گیری سطح سرمی چربی ها و لیوپروتئین ها گرفته شد، در پایان مطالعه خرگوش ها بیهوش شده و کبد آنها از حفره شکم خارج شد. به دنبال پاساژ بافتی مقاطع ۵ میکرونی به صورت سریال تهیه و با همتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند. سپس اسلایدها با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. داده ها با آزمون t زوجی تجزیه و تحلیل شدند. **نتایج:** تغییرات سطح کلسترول و لیوپروتئین های خون با دانسیته بالا و کم در خرگوش های دریافت کننده رژیم غذایی کلسترول و کلسترول با اسید اسکوربیک بعد از آزمایش نسبت به قبل از آزمایش اختلاف معنادار آماری را نشان داد ($p < 0.05$). تغییرات بافت شناسی و رسوب کلسترول در نسوج سلول های کبدی در خرگوش هایی که با کلسترول تغذیه می شدند، مشاهده شد. **نتیجه گیری:** ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدان موجب کاهش سطح سرمی کلسترول و لیوپروتئین های خون شد و همچنین در پیش گیری از رسوب کلسترول در بافت کبد موثر بود.

واژگان کلیدی: اسید اسکوربیک، لیوپروتئین، کلسترول، کبد

۱- استادیار گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

۲- دانشیار گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- مربی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مراغه

* نویسنده مسؤول: رحیم گل محمدی

آدرس: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی، جنب پلیس راه، کدپستی: ۹۶۱۳۸۷۳۱۳۶

پست الکترونیک: Rahimgolmohammadi@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۵ ۵۷۱ ۲۵۷۳

دورنویس: ۰۵۷۱ ۴۴۴۶۰۰۸

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۸/۱/۲۲

مقدمه

بیماری های عروق، دیابت، فشارخون و گوارشی ایجاد شده ناشی از آنها یکی از مسائل مهم بهداشتی امروز می باشد که سلامت عمومی را تهدید می کند [۲]. از یک طرف کاهش لیوپروتئین HDL (High-density lipoprotein) موجب اختلال در انتقال کلسترول به کبد می شود که به عنوان یک عامل تسریع کننده در بیماری های عروق اشاره شده است. کاهش اولیه آن می تواند ناشی

اثر هیپرلیپیدی، کلسترول و لیوپروتئین های آتروژنیک LDL (low-density lipoprotein) و VLDL (very low-density lipoprotein) در بروز آترواسکلروز مشخص شده است [۱]. اختلال عملکردی ایجاد شده ناشی از آنها یک معضل مهم برای کشورهای غربی و در حال توسعه محسوب می شود و

گروه ج: رژیم غذایی معمولی + رژیم کلسترول یک درصد
گروه د: رژیم غذایی معمولی + رژیم کلسترول یک درصد + اسید اسکوریک

۲ گرم اسید اسکوریک (Merk) در ۶۰ میلی لیتر آب آشامیدنی معمولی حل می شد و از محلول فوق به مقدار ۳ میلی لیتر با سرنگ به صورت خوراکی از راه دهان به خرگوش ها داده می شد. یک گرم پودر کلسترول ۱ درصد به صد گرم غذای خرگوش ها اضافه می شد. برای اندازه گیری سطح سرمی چربی ها و لیپوپروتئین ها، قبل از شروع تغذیه و نیز ۴۰ روز پس از دریافت رژیم غذایی، از طریق ورید پشت گوش خرگوش ها خون گیری به عمل آمد و با استفاده از کیت های آزمایشگاهی استاندارد مقدار لیپوپروتئین ها، کلسترول و تری گلیسرید سنجیده شد. پس از پایان روز چهارم حیوانات مانند روز اول وزن شدند. سپس خرگوش ها با تزریق داروی پنتو باریتال ۵۰ mg/kg بیهوش و کشته شدند. پس از تشریح جدار شکم، کبد با محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد شستشو داده شد. بلا فاصله قطعه ای از کبد در فرمالین ۱۰ درصد جهت ثابت شدن قرار داده شد [۱۲، ۱۱، ۱۰]. پاساژ بافتی بوسیله دستگاه Tissue processing انجام شد. مقاطع ۵ میکرونی از تمام بلوک های پارافینی به صورت سریال با میکروتوم چرخشی تهیه شد. پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین اتوزین، مقاطع تهیه شده با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. داده ها با استفاده از آزمون آماری t زوجی تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

تغییرات سطح کلسترول و لیپوپروتئین های LDL و HDL در خرگوش های دریافت کننده رژیم کلسترول و گروهی از خرگوش های که کلسترول را با اسید اسکوریک دریافت می کردند بعد از آزمایش نسبت به قبل از دریافت رژیم غذایی اختلاف معنادار آماری را نشان داد، در حالی که سطح لیپوپروتئین LDL و HDL در گروهای که آب و اسید اسکوریک دریافت می کردند نسبت به قبل از شروع اختلاف معناداری آماری نشان نداد (جدول های شماره ۱ و ۲). تغییرات میانگین سطح سرمی لیپوپروتئین LDL در حیواناتی که رژیم کلسترول را با ویتامین C دریافت می کردند کمتر از حیواناتی بود که رژیم کلسترول می گرفتند، در حالی که میانگین سطح لیپوپروتئین HDL در دو گروه فوق نزدیک بهم بود (جدول های ۱ و ۲). تغییرات میانگین سطح سرمی کلسترول و تری گلیسرید در خرگوش هایی که اسید اسکوریک را با کلسترول دریافت می کردند کمتر از حیواناتی بود که رژیم کلسترول می گرفتند (جدول ۳ و ۴). در بین سلول های

از نقص عملکردی آنزیم کبدی و یا عوامل دیگر باشد، به طوری که کاهش فعالیت لیپاز کبدی HLLA Hepatic lipoprotein (lipase activity) در سلول های کبدی سبب افزایش غلظت HDL می شود. از طرف دیگر به خاطر نقص آنزیمی در سلول های کبد، استرکلسترول ها و اسیدهای چرب به درستی تشکیل نشده و متعاقب آن لیپولیز و تشکیل اسیدهای صفراوی با مشکل همراه می شود [۳، ۲]. کبد بزرگترین عضو بیوترانسفورماتور است که می تواند از اثرات رادیکال های آزاد و سوپراکسید آنیونی بکاهد و به عنوان یکی از مهمترین اعضا در متابولیسم مواد طبیعی، سموم و داروها عمل می کند [۴]. امروزه بیماری های قلبی-عروقی و گوارشی در بیشتر کشورهای صنعتی و در حال توسعه رو به افزایش می باشد. در دهه اخیر مطالعات گسترده ای جهت استفاده از مواد آنتی اکسیدان به منظور پیشگیری از فرآیند آترواسکلروز به منظور کم کردن عوارض این بیماری ها در دست انجام می باشد؛ به طوری که امروزه یکی از اولویت مهم بهداشتی را در بیشتر کشورها به خود اختصاص می دهد [۶، ۵]. اسید اسکوریک یک آنتی اکسیدان آب دوست با وزن مولکولی پائین در تشکیلات سلولی است و در اکسیداسیون لیپوپروتئین LDL نقش دارد [۸، ۷]. هر چند تاثیر کلسترول در آترواسکلروز عروق کرونری مشخص شده است، ولی مطالعه ای مدونی که تاثیر اسید اسکوریک را بر ساختار بافت کبدی حیواناتی که با کلسترول تغذیه شده اند نشان دهد، مشاهده نشد و احتمال داده می شود که اسید اسکوریک در کاهش سطح لیپوپروتئین LDL خون و پیشگیری از رسوب چربی در ریز ساختار کبد موثر باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ویتامین C بر سطح لیپوپروتئین های خون، قبل و بعد از تغذیه با رژیم پر کلسترول و نیز تغییرات بافتی کبد در خرگوش های نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ سر خرگوش نر سفید (نژاد راج پولیش) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بود در طی سال های ۸۶-۱۳۸۴ انجام شد. عمر خرگوش ها ۶ ماه و وزن آنها به طور متوسط هر کدام حدود ۱۰۰۰ گرم بود. خرگوش ها به مدت یک هفته در لانه حیوانات دانشکده پزشکی جهت آشنایی و عادت کردن با محیط جدید و رژیم غذایی در شرایط یکسان نگهداری شدند. سپس آنها به صورت تصادفی به چهار گروه ده-تایی تقسیم شدند [۹] که شرح رژیم آنها به ترتیب ذیل می باشد.

گروه الف: رژیم غذایی معمولی

گروه ب: رژیم غذایی معمولی + اسید اسکوریک

خرگوش‌هایی که با رژیم کلسترول تغذیه می‌شدند حجرات چربی ناشی از رسوب کلسترول نمایان بود (شکل ۳).

جدول ۱- میانگین غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته کم (LDL) در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم در دسی لیتر

رژیم غذای گروه‌های آزمایش	قبل از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	بعد از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	Pv
آب آشامیدنی معمولی	۱۱۹/۹۸ $\pm$ ۲/۹۹	۱۲۱/۵۰ $\pm$ ۹۰/۲۱	۰/۴۵
آب + اسید اسکوربیک	۱۲۳/۳۵ $\pm$ ۱۱/۵۳	۱۲۰/۳۰ $\pm$ ۶۰/۰۲	۰/۱۵
آب + رژیم کلسترول	۱۲۲/۳۷ $\pm$ ۱۲/۵۶	۱۲۳۷/۵۰ $\pm$ ۹۰/۲۰	۰/۰۰۱
آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک	۱۳۵/۶۰ $\pm$ ۱۱/۴۶	۶۵۵/۵۵ $\pm$ ۸۴/۰۲	۰/۰۰۱

جدول ۲- میانگین غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته زیاد (HDL) در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم در دسی لیتر

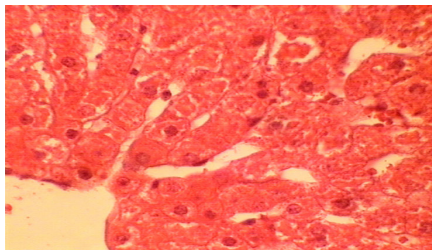
رژیم غذای گروه‌های آزمایش	قبل از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	بعد از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	Pv
آب آشامیدنی معمولی	۳۰/۵۰ $\pm$ ۸/۳۲	۳۰/۴۰ $\pm$ ۴/۱۲	۰/۳۵
آب + اسید اسکوربیک	۳۱/۹۰ $\pm$ ۱۳/۱۹	۲۹/۹۱ $\pm$ ۱۲/۲۱	۰/۱۴
آب + رژیم کلسترول	۲۸/۱۲ $\pm$ ۷/۰۴	۱۴۱/۶۲ $\pm$ ۱۲/۱۲	۰/۰۰۱
آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک	۳۵/۰۰ $\pm$ ۱۲/۹۹	۱۱۱/۱۱ $\pm$ ۵/۶۰	۰/۰۰۱

جدول ۳- میانگین غلظت کلسترول در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم در دسی لیتر

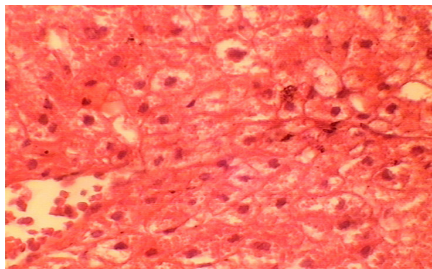
رژیم غذای گروه‌های آزمایش	قبل از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	بعد از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	Pv
آب آشامیدنی معمولی	۱۷۵/۹۹ $\pm$ ۴/۰۹	۱۷۵/۱۷ $\pm$ ۱۷/۰۸	۰/۵۱
آب + اسید اسکوربیک	۱۷۶/۶۲ $\pm$ ۱/۹۰	۱۷۴/۰۴ $\pm$ ۲/۰۴	۰/۰۱۶
آب + رژیم کلسترول	۱۷۷/۵۰ $\pm$ ۳۶/۵۱	۱۳۹۶/۶۰ $\pm$ ۱۷۳/۰۵	< ۰/۰۰۰۱
آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک	۲۰۸/۰۰ $\pm$ ۶۱/۷۹	۷۴۱/۱۰ $\pm$ ۸۶/۰۳	< ۰/۰۰۰۱

جدول ۴- میانگین غلظت تری گلیسرید در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم در دسی لیتر

رژیم غذای گروه‌های آزمایش	قبل از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	بعد از رژیم ($\bar{X} \pm SD$)	Pv
آب آشامیدنی معمولی	۶۶/۷۴ $\pm$ ۳/۳۴	۶۷/۲۶ $\pm$ ۳۱/۷۸	۰/۶۶
آب + اسید اسکوربیک	۶۷/۰۹ $\pm$ ۲/۵۷	۶۶/۳۰ $\pm$ ۱/۵۷	۰/۵۱
آب + رژیم کلسترول	۶۶/۰۹ $\pm$ ۳۶/۶۳	۲۲۵/۰۰ $\pm$ ۱۲۵/۸۴	۰/۰۰۲
آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک	۶۷/۵۰ $\pm$ ۱۰/۳۴	۱۰۹/۰۰ $\pm$ ۳۷/۳۸	۰/۰۰۴



شکل ۱- مقطع میکروسکوپی از بافت کبد خرگوش گروه شاهد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین با بزرگنمایی $\times 400$



شکل ۲- مقطع میکروسکوپی از بافت کبد خرگوش گروه دریافت کننده کلسترول و اسید اسکوربیک. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین با بزرگنمایی $\times 400$



شکل ۳- مقطع میکروسکوپی از بافت کبد خرگوش گروه دریافت کننده کلسترول. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین با بزرگنمایی $\times 400$. پیکان محل رسوب کلسترول را نشان می‌دهد. CV؛ ورید مرکز لبولی.

بحث

افزایش لیپوپروتئین های سرمی LDL، VLDL، کلسترول و تری گلیسرید در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها نقش دارند. لیپوپروتئین LDL اکسید شده ترکیبات بیولوژیک فعالی را تولید می کند که در فرایند آترواسکلروز نقش دارند [۳،۴]. در مطالعه حاضر سطح لیپوپروتئین LDL در خرگوش هایی که رژیم کلسترول و اسید اسکوریک را به طور هم زمان دریافت می کردند کمتر از خرگوش هایی بود که رژیم کلسترول دریافت می کردند. بنابراین اسید اسکوریک از افزایش سطح لیپوپروتئین های LDL اکسید شده جلوگیری نموده است؛ در حالی که اسید اسکوریک در افزایش لیپوپروتئین های HDL در خرگوش هایی که رژیم غذایی همراه با اسید اسکوریک دریافت می کردند، تاثیری نداشته است و به خاطر همین اثرات متفاوت است که بعضی از محققین دیگر هم بر مطالعه بیشتر آن تاکید می کنند [۱۳]. اما اسید اسکوریک چگونه سبب کاهش لیپوپروتئین های LDL اکسیده شده است؟ احتمالا این اثر از طریق مهار تشکیل رادیکال های آزاد و یا از طریق گلیکوپروتئین انتقالی استر کلسترول (CETP: Cholesterol ester transfer protein) و یا عامل دیگر انجام شده است [۱۵،۱۴]. CETP یک گلیکوپروتئین پلاسمای آب گریز است که انتقال و مبادله استر کلسترول و تری گلیسرید را میان لیپوپروتئین های پلازما تنظیم می کند و نقش مهمی را در متابولیسم HDL به عهده دارد؛ به طوری که موش های تراریخته شده با ژن CETP سطح کمتری از استر کلسترول پلاسمای HDL را نشان می دهند. احتمالا این تغییر می تواند مرتبط با افزایش مصرف استر کلسترول HDL توسط کبد باشد. به عبارت دیگر، بیان بالای CETP موجب کاهش HDL و برعکس باعث افزایش لیپوپروتئین های LDL و VLDL سرمی می شود [۱۷،۱۶]. نتایج مطالعه ای که توسط Stait و همکارانش بر روی موش ها انجام شده است نشان داد اسید اسکوریک می تواند باعث مهار و یا کاهش لیپوپروتئین های LDL شود و این عمل مهاری اکسیداسیون LDL توسط ویتامین C با غلظت بالا احتمالا بوسیله ماکروفاژها و یا به طور مستقل از آنها انجام می شود [۱۳]. در مطالعات انجام شده روی موش های صحرایی، ویتامین C با

داشتن خاصیت ضد اکسیدانی از طریق فعال کردن بعضی از آنزیم ها، رادیکال های آزاد را تا حدودی مهار یا بی اثر می کند [۱۹،۱۸]. مطالعه ای انجام شده روی خرگوش ها نشان می دهد که مصرف اسید اسکوریک با دوز بالا موجب کاهش رسوب چربی در بین سلول های آندوتلیال جدار عروق می شود که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد [۵]. در مطالعه حاضر رسوب چربی در سلول های کبد خرگوش هایی که رژیم کلسترول دریافت می کردند مشاهده شد، ولی در خرگوش هایی که ویتامین C را با کلسترول دریافت می کردند رسوب چربی در سلول های کبد و یا بین آنها مشخص نبود. این تصور نیز وجود دارد که پدیدار نشدن عوارض بافتی و علائم بالینی در نسج کبدی به خاطر کم بودن طول مدت یا روش مطالعه باشد. احتمال دیگر نیز داده می شود که اسید اسکوریک توانسته از طریق HMG-COA reductase که توسط کلسترول مهار می شود، اثر مهاری آن را تعدیل کند [۲۰]. از نکات برجسته این تحقیق در مقایسه با مطالعات قبلی تاثیر اسید اسکوریک در حیوانات تغذیه شده با کلسترول، اندازگیری میزان لیپوپروتئین سرمی و مطالعه همزمان تاثیر آنها بر روی ساختار ریز بینی بافت کبد با میکروسکوپی نورانی بود که رسوب چربی در بین نسج کبد در حیواناتی که تنها با کلسترول تغذیه می شدند در نمای میکروسکوپ نوری نمایان بود. در عین حال برای بررسی جزئیات بیشتر ساختمانی بافت کبد با مطالعات فوق میکروسکوپی پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری

براساس یافته های این مطالعه اسید اسکوریک در کاهش سطح لیپوپروتئین های خون و پیشگیری از رسوب کلسترول در بافت کبد در گروهی از خرگوش ها که با کلسترول بالا تغذیه می شدند موثر بود.

تشکر و قدردانی

از پاتولوژیست محترم آقای دکتر محمدرضا مهاجری و پرسنل حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تقدیر می شود.

Reference:

- [1] Aldred S. Oxidative and nitrate changes seen in lipoproteins following exercise. *Atherosclerosis* 2007;192(1):1-8.
- [2] Sorokin A, Brown JL, Thompson PD. Primary biliary cirrhosis, hyperlipidemia, and atherosclerotic risk: a systematic review. *Atherosclerosis* 2007;194(2):293-9.
- [3] Arner P. Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19(4):471-82.

- [4] Fischer AB, Hess C, Neubauer T, Eikmann T. Testing of chelating agents and vitamins against lead toxicity using mammalian cell cultures. *Analyst* 1998;123(1):55-8.
- [5] Hidaka A, Inoue K, Kutsukake S, Adachi M, Kakuta Y, Kojo S. Decrease in the particle size of low-density lipoprotein (LDL) by oxidation. *Bio org Med Chem Lett* 2005;15(11):2781-5.
- [6] Gilham D, Ho S, Rasouli M, Martres P, Vance DE, Lehner R. Inhibitors of hepatic microsomal triacylglycerol hydrolase decrease very low density lipoprotein secretion. *FASEB J* 2003;17(12):1685-7.
- [7] Kierszenbaum Abraham L. Histology and Cell Biology. Mosby: 2002. pp.366-90.
- [8] Tarnag DC, Hung SC, Huang TP. Effect of intravenous ascorbic acid medication on serum levels of soluble transferrin receptor in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(9):2486-93.
- [9] Hasan MY, Alshuaib WB, Singh S, Fahim MA. Effects of ascorbic acid on lead induced alterations of synaptic transmission and contractile features in murine dorsiflexor muscle. *Life Sci* 2003;73(8):1017-25.
- [10] Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK. Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology* 2001;162(2):81-8.
- [11] Wang C, Zhang Y, Liang J, Shan G, Wang Y, Shi Q. Impacts of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in testis. *Clin Chim Acta* 2006;370(1-2):82-8.
- [12] Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, et al. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(8):3704-9.
- [13] Stait SE, Leake DS. Ascorbic acid can either increase or decrease low density lipoprotein modification. *FEBS Lett* 1994;341(2-3):263-7.
- [14] Zhou H, Li Z, Silver DL, Jiang XC. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) expression enhances HDL cholesteryl ester liver delivery, which is independent of scavenger receptor BI, LDL receptor related protein and possibly LDL receptor. *Biochim Biophys Acta* 2006;1761(12):1482-8.
- [15] Das S, Ray R, Snehlata D, Das N, Srivastava LM. Effect of ascorbic acid on prevention of hypercholesterolemia induced atherosclerosis. *Mol Cell Biochem* 2006;285(1-2):143-7.
- [16] Rotllan N, Calpe-Berdiel L, Guillaumet-Adkins A, Sören-Castillo S, Blanco-Vaca F, Escolà-Gil JC. CETP activity variation in mice does not affect two major HDL antiatherogenic properties: macrophage-specific reverse cholesterol transport and LDL antioxidant protection. *Atherosclerosis* 2008;196(2):505-13.
- [17] Agellon LB, Walsh A, Hayek T, Moulin P, Jiang XC, Shelanski SA, et al. Reduced high density lipoprotein cholesterol in human cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. *J Biol Chem* 1991;266(17):10796-801.
- [18] Holvoet P. Expert Opin Investig Drugs. Role of oxidatively modified low density lipoproteins and antioxidants in atherothrombosis. *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8(5):527-44.
- [19] Hernandez M, Wright SD, Cai TQ. Critical role of cholesterol ester transfer protein in nicotinic acid-mediated HDL elevation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355(4):1075-80.
- [20] Nicolle C, Cardinault N, Gueux E, Jaffrelo L, Rock E, Mazur A, et al. Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clin Nutr* 2004;23(4):605-14.