

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

\*<sup>۱</sup>  
رحیم گل محمدی<sup>۲</sup> ، غلام رضا دشتی<sup>۲</sup> ، پرویز واحدی<sup>۳</sup>

### 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، هپر لپیدمی و لیپوپروتئین 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 لیپوپروتئن ها نقش بازدارنده دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ویتامین C بر سطح لیپیدو پروتئین 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 آشنازی با محیط جدید به صورت تصادفی به چهار گروه ده تابی 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 اندازگیری سطح سرمی چربی ها و لیپوپروتئین ها گرفته شد. در پایان مطالعه خرگوش ها بیهوش شده و کبد آنها از حفره شکم خارج شد. به دنبال پاساز بافتی مقاطع ۵ میکرونی به صورت سریال تهیه و با هماتوکسیلین و انوزین رنگ آمیزی شدند. سپس اسلامیدها با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. دادها با آزمون آزوچی تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: تغییرات سطح کلسترول و لیپوپروتئین های خون با داشتنیه 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 لیپوپروتئین های خون شد و همچنین در پیش گیری از رسوب کلسترول در بافت کبد موثر بود.

**واژگان کلیدی:** اسید اسکوربیک، لیپوپروتئن، 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- مریبی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مراغه

\* نویسنده مسؤول: رحیم گل محمدی

آدرس: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی، جنب پلیس راه، کد پستی: ۹۶۱۳۸۷۳۱۳۶

پست الکترونیک: Rahimgolmohammadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۲

تلفن: ۰۹۱۵ ۵۷۱ ۲۵۷۳

تاریخ پذیرش نهایی: ۸/۱/۲۲

دورنويis: ۰۵۷۱ ۴۴۴۶۰۰۸

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 لیپوپروتئین 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

### مقدمه

اثر هپر لپیدمی، کلسترول و لیپوپروتئین های آتروژنیک (very low- VLDL) (low-density lipoprotein) LDL 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 اسکوربیک

۲ گرم اسید اسکوربیک (Merk) در ۶۰ میلی لیتر آب آشامیدنی معمولی حل می شد و از محلول فوق به مقدار ۳ میلی لیتر با سرنگ به صورت خوارکی 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 چهلم حیوانات مانند روز اول وزن شدند. سپس خرگوش ها با تزریق داروی پنتو باریتال mg/kg ۵۰ 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 [۱۰، ۱۱، ۱۲]. 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 ائوزین، 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 اسکوربیک 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 گروهایی که آب و اسید اسکوربیک 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 اسکوربیک 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، استر کلسترول ها و اسیدهای چرب به درستی تشکیل نشده و متعاقب آن لیپولیز و تشکیل اسیدهای صفرایی با مشکل همراه می شود [۲، ۳]. کبد بزرگترین عضو بیوترانسفورماتور است که می تواند از اثرات رادیکال های آزاد و سوپراکسید آئیونی بکاهد و به عنوان یکی از مهمترین اعضاء در متابولیسم مواد طبیعی، سوموم 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 گسترشده 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 [۵، ۶]. اسید اسکوربیک یک آنتی اکسیدان آب دوست با وزن مولکولی پائین در تشکیلات سلولی است و در اکسیداسیون لیپوپروتئین LDL نقش دارد [۷، ۸]. هر چند تاثیر کلسترول در آترواسکلروز عروق کرونری مشخص شده است، ولی مطالعه ای مدونی که تاثیر اسید اسکوربیک را بر ساختار بافت کبدی حیواناتی که با کلسترول تغذیه شده اند نشان دهد، مشاهده نشد و احتمال داده می شود که اسید اسکوربیک 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

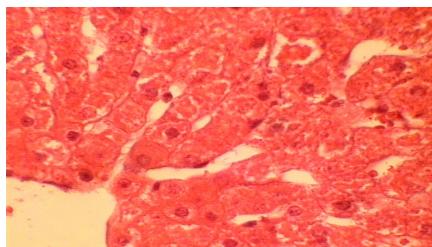
این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ سر خرگوش نر سفید (نژاد راج پولیش) که از انسیتو پاستور ایران تهیه شده بود در طی سال های ۸۶-۱۳۸۴ انجام شد. عمر خرگوش ها ۶ ماه و وزن آنها به طور متوسط هر کدام حدود ۱۰۰۰ گرم بود. خرگوش ها به مدت یک هفته در لانه حیوانات دانشکده پژوهشی جهت آشنایی و عادت کردن با محیط جدید و رژیم غذایی 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

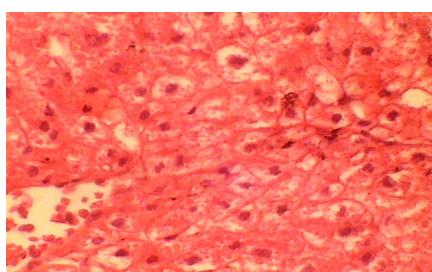
گروه ب: رژیم غذایی معمولی + اسید اسکوربیک

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

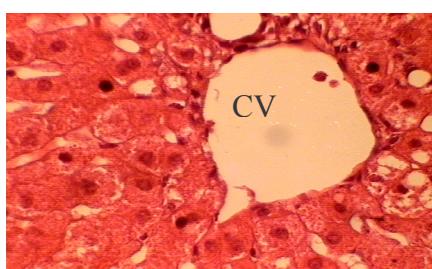
Pv	بعد از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	قبل از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	رژیم غذای گروهای آزمایش
۰/۶۶	۶۷/۲۶ $\pm ۳۱/۷۸$	۶۷/۷۴ $\pm ۳/۳۴$	آب آشامیدنی معمولی
۰/۵۱	۶۷/۳۰ $\pm ۱/۰۷$	۶۷/۰۹ $\pm ۲/۵۷$	آب + اسید اسکوربیک
۰/۰۰۲	۲۲۵/۰۰ $\pm ۱۲۵/۸۴$	۶۷/۰۹ $\pm ۳۶/۶۳$	آب + رژیم کلسترول
۰/۰۰۴	۱۰۹/۰۰ $\pm ۳۷/۳۸$	۶۷/۵۰ $\pm ۱۰/۳۴$	آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک



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



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



شکل ۳- مقطع میکروسکوپی از بافت کبد خرگوش گروه دریافت کننده کلسترول. رنگ آمیزی هماتوکسیلین اثوزین با بزرگنمایی  $400\times$ . پیکان محل رسووب کلسترول را نشان می دهد. CV: ورید مرکز لبوی.

خرگوش هایی که با رژیم کلسترول تغذیه می شدند حجرات چربی ناشی از رسووب کلسترول نمایان بود (شکل ۳).

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

Pv	بعد از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	قبل از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	رژیم غذای گروهای آزمایش
۰/۴۵	۱۲۱/۵۰ $\pm ۹۰/۲۱$	۱۱۹/۹۸ $\pm ۲/۹۹$	آب آشامیدنی معمولی
۰/۱۵	۱۲۰/۳۰ $\pm ۶۰/۰۲$	۱۲۳/۳۵ $\pm ۱۱/۰۳$	آب + اسید اسکوربیک
۰/۰۰۱	۱۲۳۷/۵۰ $\pm ۹۰/۲۰$	۱۲۲/۳۷ $\pm ۱۲/۰۶$	آب + رژیم کلسترول
۰/۰۰۱	۶۰۵/۵۰ $\pm ۸۴/۰۲$	۱۳۵/۶۰ $\pm ۱۱/۴۶$	آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک

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

Pv	بعد از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	قبل از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	رژیم غذای گروهای آزمایش
۰/۳۵	۳۰/۴۰ $\pm ۴/۱۲$	۳۰/۵۰ $\pm ۸/۴۲$	آب آشامیدنی معمولی
۰/۱۴	۲۹/۹۱ $\pm ۱۲/۲۱$	۳۱/۹۰ $\pm ۱۳/۱۹$	آب + اسید اسکوربیک
۰/۰۰۱	۱۴۱/۶۲ $\pm ۱۲/۱۲$	۲۸/۱۲ $\pm ۷/۰۴$	آب + رژیم کلسترول
۰/۰۰۱	۱۱۱/۱۱ $\pm ۵/۶۰$	۳۵/۰۰ $\pm ۱۲/۹۹$	آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک

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

Pv	بعد از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	قبل از رژیم ( $\bar{X} \pm SD$ )	رژیم غذای گروهای آزمایش
۰/۵۱	۱۷۵/۱۷ $\pm ۱۷/۰۸$	۱۷۵/۹۹ $\pm ۴/۰۹$	آب آشامیدنی معمولی
۰/۰۱۶	۱۷۴/۰۴ $\pm ۲/۰۴$	۱۷۷/۶۲ $\pm ۱/۹۰$	آب + اسید اسکوربیک
<۰/۰۰۱	۱۳۹۶/۶۰ $\pm ۱۷۳/۰۵$	۱۷۷/۵۰ $\pm ۳۶/۵۱$	آب + رژیم کلسترول
<۰/۰۰۱	۷۴۱/۱۰ $\pm ۸۶/۰۳$	۲۰۸/۰۰ $\pm ۶۱/۷۹$	آب + رژیم کلسترول + اسید اسکوربیک

## بحث

داشتن خاصیت ضد اکسیدانی از طریق فعال کردن بعضی از آنزیم‌ها، رادیکال‌های آزاد را تا حدودی مهار یا بی‌اثر می‌کند [۱۸، ۱۹]. مطالعه‌ی انجام شده روی خرگوش‌ها نشان می‌دهد که مصرف اسید اسکوربیک با وزن بالا موجب کاهش رسوب چربی در بین سلول‌های آندوتیال جدار عروق می‌شود که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد [۵]. در مطالعه حاضر رسوب چربی در سلول‌های کبد خرگوش‌هایی که رژیم کلسترول دریافت می‌کردند مشاهده شد، ولی در خرگوش‌هایی که ویتامین C را با کلسترول دریافت می‌کردند رسوب چربی در سلول‌های 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 می‌شود که اسید اسکوربیک توانسته از طریق HMG-COA reductase که توسط کلسترول مهار می‌شود، اثر مهاری آن را تعدیل کند [۲۰]. از نکات برجسته این تحقیق در مقایسه با مطالعات قبلی تاثیر اسید اسکوربیک در حیوانات تغذیه شده با کلسترول، اندازگیری میزان لیپوپروتئین سرمی و مطالعه همزمان تاثیر آنها بر روی ساختار ریز بینی بافت کبد با میکروسکوپیک نوری بود که رسوب چربی در بین نسوج کبد در حیواناتی که تنها با کلسترول تغذیه می‌شدند در نمای میکروسکوپیک نوری نمایان بود. در عین حال برای بررسی جزئیات بیشتر ساختمنی بافت کبد با مطالعات فوق میکروسکوپی پیشنهاد می‌شود.

## نتیجه گیری

براساس یافته های این مطالعه اسید اسکوربیک در کاهش سطح لیپوپروتئین های خون و پیشگیری از رسوب کلسترول در بافت کبد در گروهی از خرگوش‌ها که با کلسترول بالا تغذیه می‌شدند موثر بود.

## تشکر و قدردانی

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

افزایش لیپوپروتئین های سرمی VLDL، LDL، کلسترول و تری گلیسرید در پاتوژنی بسیاری از بیماری‌ها نقش دارند. لیپوپروتئین LDL اکسید شده ترکیبات بیولوژیک فعالی را تولید می‌کند که در فرایند آتروواسکلروز نقش دارند [۳، ۲]. در مطالعه حاضر سطح لیپوپروتئین LDL در خرگوش‌هایی که رژیم کلسترول و اسید اسکوربیک را به طور هم زمان دریافت می‌کردند کمتر از خرگوش‌هایی بود که رژیم کلسترول دریافت می‌کردند. بنابراین اسید اسکوربیک از افزایش سطح لیپوپروتئین‌های LDL اکسید شده جلوگیری نموده است؛ در حالی که اسید اسکوربیک در افزایش لیپوپروتئین‌های HDL در خرگوش‌هایی که رژیم غذایی همراه با اسید اسکوربیک دریافت می‌کردند، تاثیری نداشته است و به خاطر همین اثرات متفاوت است که بعضی از محققین دیگر هم بر مطالعه بیشتر آن تأکید می‌کنند [۱۳]. اما اسید اسکوربیک چگونه سبب کاهش لیپوپروتئین‌های LDL اکسیده شده است؟ احتمالاً این اثر از طریق مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد و یا از طریق گلیکوپروتئین انتقالی استر کلسترول Cholesterol ester transfer protein ( CETP ) و یا عامل دیگر انجام شده است [۱۴، ۱۵]. CETP یک گلیکوپروتئین پلاسمای آب گریز است که انتقال و مبادله استر کلسترول و تری گلیسرید را میان لیپوپروتئین‌های پلاسمما تنظیم می‌کند و نقش مهمی را در متابولیسم HDL به عنده دارد؛ به طوری که موش-های تاریخته شده با ژن CETP سطح کمتری از استر کلسترول پلاسمای HDL را نشان می‌دهند. احتمالاً این تغییر می‌تواند مرتبط با افزایش مصرف استر کلسترول HDL توسط کبد باشد. به عبارت دیگر، بیان بالای CETP موجب کاهش HDL و بر عکس باعث افزایش لیپوپروتئین‌های LDL و VLDL سرمی می‌شود [۱۶، ۱۷]. نتایج مطالعه‌ای که توسط Stait و همکارانش بر روی موش‌ها انجام شده است نشان داد اسید اسکوربیک می‌تواند باعث مهار و یا کاهش لیپوپروتئین‌های LDL شود و این عمل مهاری اکسیداسیون LDL توسط ویتامین C با غلظت بالا احتمالاً بوسیله ماکروفازها و یا به طور مستقل از آنها انجام می‌شود [۱۳]. در مطالعات انجام شده روی موش‌های صحرایی، ویتامین C با

## Reference:

- [1] Aldred S. Oxidative and nitrative 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] Targn 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, Süren-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 anti-oxidants in atherothrombosis. *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8(5):527-44.
- [19] Hernandez M, Wright SD, Cai TQ. Critical role of cholesteryl 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.