

تاثیر رژیم غذایی غنی از کلسترول بر روی تعادل آنتی اکسیدان/پراکسیدان در خرگوش

اکبر دربین: مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 مسعود پزشکیان: گروه جراحی قلب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 عباس افراسیابی: گروه جراحی قلب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 همایون دولتخواه: گروه بیوشیمی و آزمایشگاههای بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 امیر منصور وطن خواه: مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 لیلا جواد: مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 محمدرضا رشیدی: مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 محمد نوری: مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail : nourimd@yahoo.com

دریافت: ۸۸/۶/۳، پذیرش: ۸۹/۲/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: رژیم غذایی غنی از کلسترول یک خطر بالقوه برای اختلالات متابولیکی است. نشان داده شده است که هیپرکلسترولمی با افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال استرس اکسیداتیو را گسترش می دهد. لذا هدف از این مطالعه بررسی تعادل آنتی اکسیداتیو/پراکسیداتیو در خرگوشهای دریافت کننده رژیم غذایی غنی از کلسترول در طی دو ماه می باشد.

مواد و روش ها: برای این بررسی ۱۶ خرگوش به صورت تصادفی به دو گروه آزمایشی و کنترل تقسیم شدند. گروه کنترل روزانه ۱۰۰ گرم رژیم غذایی معمولی (Chow Diet) و گروه دوم ۱۰۰ گرم رژیم غذایی حاوی دو درصد کلسترول دریافت کردند. در ابتدا، روز بیستم، چهل و شصتم مطالعه از حیوانات نمونه خون اخذ و بعد از جدا کردن پلاسما تا زمان اندازه گیریهای بیوشیمیایی در ۷۶- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پروفایل چربیها با روش آنزیمی در دستگاه اتوانالایزور Aboat، میزان فعالیت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری، مالون دی آلدئید به روش تیو باربیتوریک اسید و فعالیت پاراکسوناز ۱ بروش شیمیایی تعیین مقدار گردیدند.

یافته ها: در انتهای دوره مداخله، سطح پلاسمایی کلسترول ($p=0/02$)، تری گلیسرید ($p<0/001$)، LDL ($p=0/041$) افزایش معنی دار و HDL ($p=0/036$) کاهش معنی داری داشت. میزان فعالیت پاراکسوناز در طول دو ماه روند نزولی داشته و در انتهای مطالعه از $2/5 \pm 3/23 \mu\text{m}/\text{min}/\text{ml}$ کاهش یافته ($p=0/001$)، بر عکس سطح پلاسمایی MDA با افزایش نزدیک به دو برابر افزایش قابل توجهی (از $0/91 \pm 6/77$ به $3 \pm 14/5$ نانو مول در میلی لیتر) را نشان می دهد ($p=0/300$). فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز برخلاف انتظار افزایش معنی داری (بترتیب $p=0/001$ و $p<0/001$) را داشته اند.

نتیجه گیری: رژیم غذایی آتروژن با تغییر متابولیکی، پارامترهای لیپیدی و لیپوپروتئینی را تحت تاثیر قرار داده و با بهم زدن نسبت آنتی اکسیدانت/پراکسیداسیون موجب گسترش استرس اکسیداتیو و زمینه را برای بروز و پیشرفت آترواسکروزیس فراهم می نماید.

کلید واژه ها: کلسترول، پاراکسوناز-۱، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز

مقدمه

شده در ساختمان لیپو پروتئین های با دانسیته بالا و کم (LDL) را هیدرولیز و از گسترش استرس اکسیداتیو جلوگیری نماید (۴۳). کاهش فعالیت PON1 پلاسما در اختلالات متابولیکی که منجر به آترواسکروز می گردد گزارش شده است (۶۵).

آنزیم پاراکسوناز - ۱، یک استراز وابسته به کلسیم است که در کبد ستر و وارد گردش خون می شود (۱). در خون انسان PON1 به صورت متصل به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا (HDL) گردش می کند (۲). نشان داده شده که PON1 می تواند لیپیدهای اکسید

۲- تهیه رژیم غذایی غنی از کلاسترول: برای تهیه غذای آتروژن به غذای استاندارد (Chow diet) حیوانات ۲٪ کلاسترول به مدت دو ماه مکمل گردید. جهت این کار ۱۶ گرم پودر کلاسترول (ساخت شرکت MERK) را با مقداری روغن ذرت به حالت خمیری شل در آورده و با ۸۰۰ گرم غذای معمولی خرگوش (Chow) کاملاً آغشته و ۱۰۰ گرم از غذای تازه تهیه شده روزانه برای هر خرگوش منظور گردید.

۳- اندازه گیری پارامترهای متابولیکی: کلاسترول، تری گلیسرید، HDL و LDL پلاسما با روشهای آنزیمی توسط کیت‌های استاندارد (پارس آزمون) و به وسیله دستگاه اتو آنالیزور Abboat اندازه گیری شدند.

۴- اندازه گیری فعالیت آنزیم PON-1: فعالیت آریل استرازی آنزیم PON-1 با استفاده از سوبسترای فنیل استات (شرکت Fluka) سنجیده شد. سرعت اولیه هیدرولیز فنیل استات با روش اسپکتروفتومتری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و طول موج ۲۷۰ nm (با ضریب خاموشی برابر ۱۳۱۰) تعیین مقدار گردید.

اندازه‌گیری میزان MDA: مالون دی آلدئید پلاسما بر پایه واکنش با تیوباریتوریک اسید (TBA)، استخراج با بوتانول نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد اندازه گیری گردید.

۵- اندازه‌گیری فعالیت SOD: برای اندازه گیری فعالیت SOD از روش آنزیمی استفاده شد. در این روش گرانتین و گرانتین اکسیداز برای تولید رادیکالهای آزاد به کار می‌روند که رادیکالهای آزاد به نوبه خود با یدو فنیل - نیترو فنل ۵ فنیل تترا سدیم کلراید (INT) برای تشکیل فورمازان رنگی واکنش می‌دهند. فعالیت سوپر اکسیدازی آنزیم بر اساس میزان مهار واکنش سنجیده می‌شود.

۶- اندازه‌گیری فعالیت GPX: برای سنجش GPX از روش اکسیداسیون و احیا استفاده شد. در این روش گلوکاتایون احیا (GSH) توسط گلوکاتایون پراکسیداز اکسید شده و سپس گلوکاتایون اکسید شده (GSSG) در حضور گلوکاتایون ردوکتاز و NADPH احیا و NADPH به $NADP^+$ تبدیل می‌گردد که در اثر این عمل میزان جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر کاهش می‌یابد.

آنالیز آماری: آنالیز آماری نتایج حاصله با استفاده از روش آزمون Kruskal-Wallis test صورت گرفته است. جهت مقایسه دو به دو گروهها از آزمون یومان ویتنی استفاده شد. جهت بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. احتمال برابری یا کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار تلقی شده است. اعداد برحسب $Mean \pm SD$ بیان شده است.

یافته‌ها

میانگین سطح پلاسمایی تری گلیسرید، کلاسترول، HDL و LDL در ابتدا، روز بیستم، روز چهارم و انتهای مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. هماهنگی متابولیکی با رژیم غذایی غنی از

مصرف رژیم غذایی غنی از کلاسترول یک خطر بالقوه برای اختلالات متابولیکی است. افزایش غلظت کلاسترول مواد غذایی و یا مصرف طولانی مدت آن با تغییرات متابولیکی و هموستاز انرژی در موجود زنده همراه می‌باشد (۷). نشان داده شده که هیپر کلاسترولمی، چرخه متابولیسم NO و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را افزایش داده و منجر به گسترش استرس اکسیداتیو می‌گردد (۸ و ۹). هماهنگی متابولیکی به کلاسترول بالا، چرخه تولید داخلی و کاتابولیسمی آنرا در بسیاری از بافتها تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۰). لذا ارزیابی پروفایل چربیهای سرم سطح اختلال متابولیکی را نشان نخواهد داد. به همین علت، پروفایلهای متابولیکی از جمله آنتی اکسیداتیو/ پرواکسیداتیو یک ابزار مناسبی برای نشان دادن وضعیت سلامتی و یا اختلال خواهد بود (۱۱).

هدف از این مطالعه بررسی سطح آنتی اکسیداتیو/ پرواکسیداتیو با اندازه گیری فعالیت پاراکسوناز - ۱ (PON1) و غلظت مالون دی آلدئید (MDA) در خرگوشهای دریافت کننده رژیم غذایی غنی از کلاسترول می‌باشد. MDA یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد که قابل ارزیابی است (۱۲). پارامترهای عمومی متابولیک از جمله تری گلیسرید، کلاسترول، لیپو پروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL) جهت ارزیابی هموستاز متابولیکی اندازه‌گیری شده و نسبت PON1/HDL نیز محاسبه گردیده، چرا که اکثریت PON1 خون متصل به ذرات HDL می‌باشد. جهت ارزیابی دفاع آنتی اکسیداتیو آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) اندازه گیری و تغییرات آنها نشان داده شده است.

مواد و روشها

۱- حیوانات و نمونه گیری خون: ۱۶ خرگوش نر و ماده از نژاد سفید نیوزلند (به علت حساسیت بالای خرگوش به تولید آتروم) به سن ۳ ماه از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه گردید. وزن خرگوشها 1800 ± 200 گرم در شروع مطالعه بود و ۱۲ ساعت در تاریکی در دمای 20 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری می‌شدند. غذا و آب تازه و سالم طبق شرایط استاندارد در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. پروتکل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه مرور و مورد تأیید قرار گرفته است. جهت ایجاد هیپرکلاسترولمی ۱۶ خرگوش به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل) طبق روش استاندارد Chow diet و گروه دوم (گروه آزمایش) رژیم غذایی غنی از کلاسترول به مدت دو ماه دریافت کردند. نمونه‌های خون در شروع مطالعه، روز بیستم، روز چهارم و روز شصتم مطالعه از وریدهای پشت گوش خرگوشها اخذ و به لوله‌های حاوی هپارین منتقل و بعد از ۵ دقیقه سانتریفوژ در 1000 rpm و ۴ درجه سانتی گراد پلاسمای آنها جدا و تا زمان انجام آزمایشهای بیوشیمیایی در -76°C درجه سانتی گراد ذخیره گردیدند.

($p=0/001$). علی رغم کاهش معنی دار PON1 آنزیم های SOD و GPX هر دو افزایش معنی داری را از روز چهارم به بعد داشته اند با این حال افزایش GPX خیلی چشمگیر می باشد. نسبت PON1/HDL در روز شصت در گروه آزمایشی بیشتر از گروه کنترل بود ($p=0/003$). غلظت MDA در فاصله دو ماه به دو برابر افزایش یافته و به $14/5$ نانومول در میلی لیتر رسیده است ($p=0/003$). رابطه ما بین فعالیت PON1 با کلسترول، تری گلیسرید، HDL، LDL و MDA در کل حیوانات که وارد مطالعه شده بودند بررسی گردید. یک رابطه معنی دار و منفی بالا ما بین فعالیت PON1 و غلظت MDA ($r=-0/615$, $p=0/021$) بدست آمد (شکل ۱). به همین ترتیب در بررسی رابطه بین MDA با سایر پارامترهای مورد بررسی یک رابطه منفی بالا بین غلظت MDA با غلظت HDL ($r=-0/57$, $P=0/0211$) مشاهده گردید (شکل ۲). ارتباط معنی داری بین فعالیت PON1 با غلظت کلسترول و غلظت HDL در حیوانات مورد مطالعه بدست نیامد.

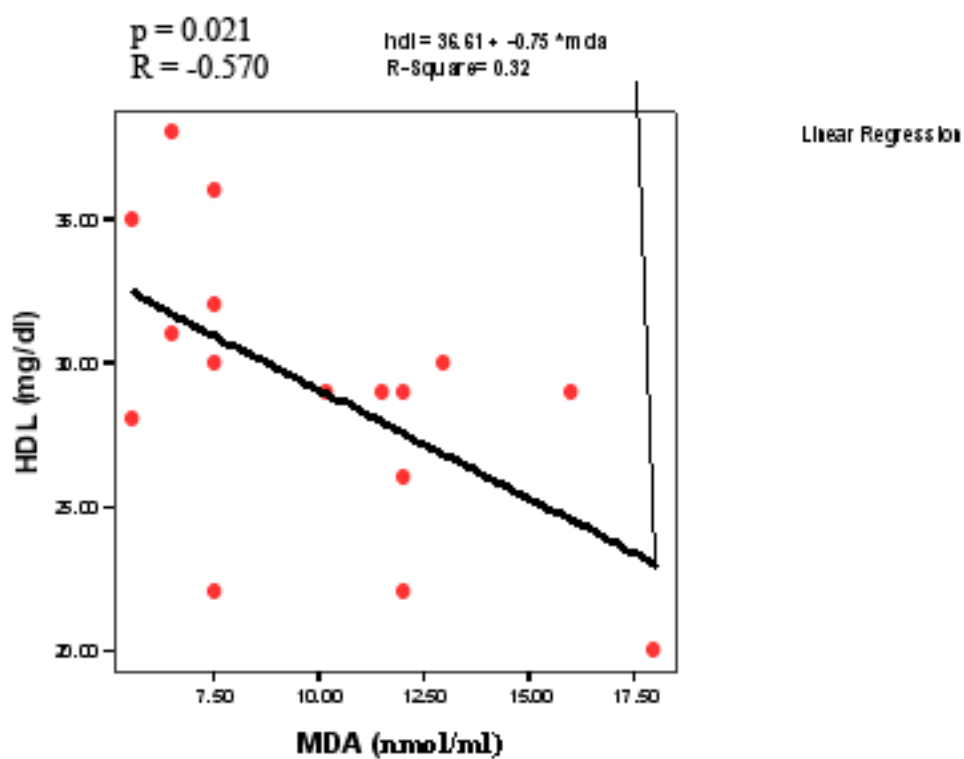
کلسترول با تغییرات در غلظت نشانگرهای متابولیک در طول دو ماه مشاهده می گردد. سطح پلاسمایی تری گلیسرید در طول دوره تیمار افزایش معنی داری یافته است به طوری که در انتهای دو ماه نزدیک به دو برابر شده است ($p=0/002$). کلسترول نیز در انتهای دو ماه افزایش معنی داری نسبت به ابتدای مطالعه داشته است ($p=0/024$). HDL در طول دوره کاهش داشته بطوریکه در انتهای شصت روز بطور متوسط 11 میلی گرم در دسی لیتر کاهش پیدا کرده ($p=0/013$), بر عکس LDL روند افزایشی داشته و در انتهای دوره میانگین آن به 140 میلی گرم در دسی لیتر رسیده است ($p=0/024$). جدول ۲ میانگین فعالیت PON1، SOD، GPX، PON1/HDL و MDA در پلاسمای خرگوشها در طول دریافت رژیم غذایی غنی از کلسترول را نشان می دهد. تغییرات پارامترهای آنتی اکسیداتیو/پراکسیداتیو گویای گذر متابولیکی ناشی از دریافت کلسترول در طول زمان می باشد. فعالیت PON1 بطور معنی داری در روز شصت نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است

جدول ۱: میانگین ($\pm$ انحراف معیار) سطح پلاسمایی تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL در گروههای مورد مطالعه

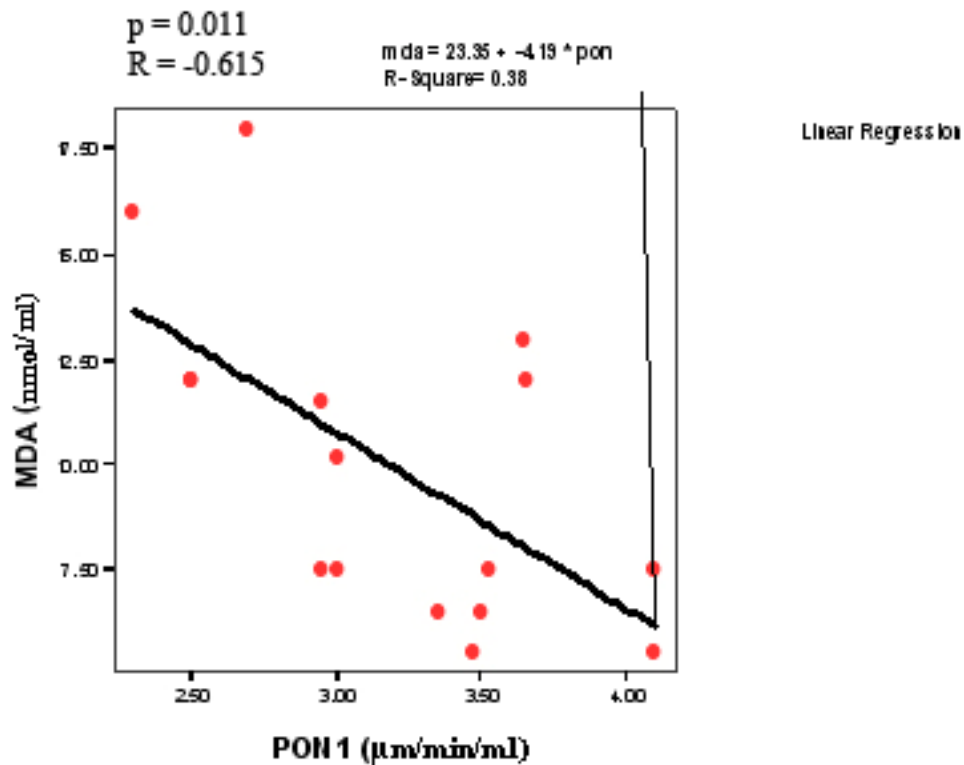
دوره تیمار	تری گلیسرید (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
صفر	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value			
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
بیست	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value			
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
چهل	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value			
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
شصت	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value			

جدول ۲: میانگین ($\pm$ انحراف معیار) میزان فعالیت PON1، SOD، GPX، PON1/HDL و MDA در گروههای مورد مطالعه

دوره تیمار	PON1 $\mu\text{m/min/ml}$	SOD u/ml	GPX u/l	PON1/HDL	MDA nmol/ml
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
صفر	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value				
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
بیست	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value				
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
چهل	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value				
روز	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل	گروه کنترل
شصت	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی	گروه آزمایشی
	P value				



شکل ۱: رابطه MDA با HDL در خرگوشهای تیمار شده با رژیم غذایی غنی از کلسترول به مدت دو ماه



شکل ۲: رابطه بین PON1 با MDA در خرگوشهای تیمار شده با رژیم غذایی غنی از کلسترول به مدت دو ماه

بحث

این مطالعه نشان می‌دهد که حالت آنتی‌اکسیداتیو/پراکسیداتیو در ارتباط با تغییرات پارامترهای متابولیکی در دوره زمانی تیمار حیوان می‌باشد. مصرف رژیم غذایی با کلسترول بالا با تغییرات متابولیسمی گسترده در داخل سلولها همراه است. این تغییرات با کاهش ستر کلسترول در سلولها شروع می‌گردد (۱۳). افت ستر کلسترول داخلی با افزایش ستر چربیهای دیگر از جمله تری‌گلیسرید همراه خواهد بود (۱۴). افزایش تری‌گلیسرید خون خودبخود می‌تواند لیپوپروتئینهای با منشاء تری‌گلیسرید را افزایش دهد و لذا افزایش تری‌گلیسرید و به موازات آن LDL در حیوانات مطالعه شده در این راستا می‌باشد. نتایج حاصله از این مطالعه نشان می‌دهد که سطح پلاسمایی کلسترول در انتهای شصت روز افزایش معنی‌داری می‌یابد اگر چه به حد هیپرکلسترولمی نمی‌رسد. بنظر می‌رسد که مکانیسمهای کترلی متابولیسم کلسترول توانایی تنظیم سطح پلاسمایی کلسترول (در صورت دریافت رژیم غذایی غنی از کلسترول) را در دراز مدت نخواهد داشت. بدین ترتیب افزایش کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و کاهش HDL نشاندهنده تغییرات عمیق متابولیکی در خرگوشهای مورد مطالعه می‌باشد. بعضی از مطالعات افزایش توام تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL را در حیوانات تیمار شده با غذای غنی از کلسترول گزارش کرده‌اند (۱۵). با این حال مطالعاتی نیز وجود دارد که در آنها افزایش کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و کاهش HDL نشان داده شده است (۱۶). به نظر می‌رسد که نوع حیوان، میزان دریافتی و طول مدت دریافت غذای آتروژن در این امر دخیل است.

هیپرکلسترولمی از ریسک فاکتورهای اصلی آترواسکلروزیس می‌باشد، اما شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو ناشی از بهم خوردن سیستم های آنتی اکسیدانت و LDL همراه با کاهش HDL از راههای مختلف پروسه آتروژن را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۷). افزایش میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و تولید ترکیبات موسوم به گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) یکی از فرایندهای اصلی دخیل در آتروژن می‌باشد (۱۸). افزایش قابل توجه محصولات لیپوپراکسیداتیو از جمله افزایش غلظت MDA در این مطالعه نشانگر شدت پراکسیداسیون لیپیدی توسط مولکولهای ROS تولید شده در حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی کلسترول بالا می‌باشد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی غالباً مصرف ترکیبات آنتی اکسیدانت را افزایش می‌دهد. لذا افزایش سطح MDA با کاهش میزان فعالیت PON1 همراه خواهد بود، چرا که PON1 پراکسیدهای لیپیدی تشکیل شده در LDL و HDL را هیدرولیز می‌کند. کاهش فعالیت PON1 و افزایش قابل توجه MDA در خرگوشهای تیمار شده با رژیم آتروژن در این مطالعه نشاندهنده عدم تعادل بین تولید رادیکالهای اکسیژن و میزان برداشت آنها می‌باشد. در بسیاری از موارد، ظرفیت آنتی اکسیداتیو

برای برداشت محصولات پراکسیداسیون لیپیدی کافی نمی‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدی با پاسخ فاز حاد در ارتباط می‌باشد برای اینکه فسفولیپیدهای اکسید شده از ترکیبات پیش التهابی هستند. نشان داده شده که التهاب می‌تواند منجر به کاهش فعالیت PON1 گردد (۱۹). اخیراً نشان داده اند که آترواسکلروزیس یک بیماری التهابی می‌باشد (۲۰) و تعدادی از مطالعات اپیدمیولوژیک ثابت کرده اند که مارکرهای سیستمیک التهاب برای پیشگویی حوادث قلبی - عروقی می‌توانند کاربرد داشته باشند (۲۱). یافته قابل توجه در این مطالعه افزایش سطح فعالیت پلاسمایی آنزیمهای آنتی اکسیدانت در خرگوشهای دریافت کننده غذای آتروژن است. افزایش SOD و GPX غالباً نشانگر بالا رفتن سطح آنتی اکسیدانت آنزیمی می‌باشد. در بعضی از مطالعات افزایش میزان فعالیت این آنزیم به افزایش سد دفاع آنتی اکسیدانتی سیستمهای بیولوژیک ربط داده شده است (۲۲). در گزارشات معدودی افزایش فعالیت SOD بدنال القاء تولید ROS توسط بعضی از داروها گزارش شده است (۲۳ و ۲۴). نتایج این یافته نشان می‌دهند که احتمالاً غذای آتروژن با تحریک تولید ROS موجب افزایش سد دفاع آنتی اکسیدانت آنزیمی به عنوان یک مسیر محافظتی در کوتاه مدت می‌گردد. جواب به این سوال که آیا این آنزیمها در دراز مدت نیز افزایش یافته باقی می‌مانند یا نه، نیازمند مطالعات دیگر با دوره زمانی بیشتر است.

در پستانداران میزان فعالیت PON1 با متابولیسم لیپیدها در ارتباط است. با این حال در این مطالعه رابطه معنی داری بین فعالیت PON1 با سطح کلسترول و HDL دیده نشد. تغییرات معنی دار نسبت PON1/HDL در خرگوشهای دریافت کننده رژیم غذایی با کلسترول بالا نسبت به گروه کنترل نیز در همین رابطه می‌باشد. بنظر می‌رسد که غذای آتروژن در عرض دو ماه HDL-C را بیشتر از PON1 تحت تاثیر قرار داده است. این یافته با نتایج بعضی از گزارشها که نشان داده شده که میزان فعالیت PON1 با غلظت HDL و کلسترول رابطه معنی داری ندارد همخوانی دارد (۲۵).

نتیجه گیری

می‌توان گفت که رژیم آتروژن با تغییر متابولیکی، پارامترهای لیپیدی و لیپوپروتئین را تحت تاثیر قرار داده و با بهم زدن نسبت آنتی اکسیدانت/پراکسیداسیون موجب گسترش استرس اکسیداتیو در حیوان می‌گردد. کاهش فعالیت PON1، یکی از ترکیبات آنزیمی مهم سیستم آنتی اکسیدانتی، موجب کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانتی در خرگوشهای تیمار شده می‌گردد که این تغییرات موجب افزایش MDA، و القاء التهاب می‌شود و نهایتاً زمینه را برای بروز و پیشرفت آترواسکلروزیس فراهم می‌نماید.

References:

- Gong M, Garige M, Varatharajalu R, Marmillot Ph, Gottipatti Ch, Leckey LC, et al. Quercetin up-regulates paraoxonase 1 gene expression with concomitant protection against LDL oxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009; **379**(2): 1001–1004.
- Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells. *Atherosclerosis* 2005; **179**(5): 69–77.
- Rebecca J, Richter GPJ, Clement EF. Paraoxonase 1 (PON1) status and substrate hydrolysis. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; **235**(6): 1–9.
- Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004; **37** (9): 1304–1316.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; **352**(4): 1685–1695.
- Albertini R, Moratti R, De Luca G. Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med*, 2002; **2**(2): 579–592.
- Kwang KK, Michael JQ, Robert SR, Wook-Jin Ch, Seung HH. Vascular and metabolic effects of treatment of combined hyperlipidemia: Focus on statins and fibrates. *International Journal of Cardiology*, 2008; **124**(1): 149–159.
- Varatharajan S, Sekar AK, Yenjerla M, Palaninathan V. Remedial effect of lupeol and its ester derivative on hypercholesterolemia-induced oxidative and inflammatory stresses. *Nutrition Research* 2007; **27**(4): 778–787.
- Rizzo M, Kotur-Stevuljevic J, Berneis K, Spinaz G, Rini GB, Jelic-Ivanovic Z. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. *Translational Research* 2009; **153**(2): 217–223.
- Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2002; **360**(4): 7–22.
- Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286**(1): 431–444.
- Miyazaki T, Shimada K, Sato O. Circulating malondialdehyde-modified LDL and atherogenic lipoprotein profiles measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2005; **179**(3): 139–145.
- Zulli A, Hare DL, Buxton BF, Black MJ. High dietary methionine plus cholesterol exacerbates atherosclerosis formation in the left main coronary artery of rabbits. *Atherosclerosis* 2004; **176**(1): 83–89.
- Ringseis R, Eder K. Dietary oxidized cholesterol decreases expression of hepatic microsomal triglyceride transfer protein in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2004; **15**(2): 103–111.
- Hong SC, Zhao SP, Wu ZH. Protocol up-regulates paraoxonase 1 expression in hepatocytes of hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2006; **47**(1): 77–81.
- Liu BW, Jiang Y, Fu MD, Liu Y, Fan P. Oxidative modification of lipoproteins in hypertriglyceridemic patients and hypercholesterolemic rabbits in vivo. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2000; **207**(1): 131–135.
- Novelli ELB. Nutrição e vida saudável. Estresse oxidativo e metabolismo energético. 1st ed. Tecmed Editora, São Paulo 2005; **38**(3): 134–136.
- Mudron P, Rehage J, Qualmann K, Sallman HP, Scholz H. A study of lipid peroxidation and vitamin E in dairy cows with hepatic insufficiency. *J Vet Med A* 1999; **46**(3): 219–224.
- Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Bio Chem* 1997; **272**(2): 20963–20966.
- Moreno JJ, Mitjavila MT. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and development of atherosclerosis. *Journal Nutritional Biochemistry* 2003; **14**(4): 182–195.
- Linton M, Fazio S. Cyclooxygenase-2 and inflammation in atherosclerosis. *Current Opinion Pharmacology* 2004; **4**(2): 116–123.
- Gardner R, Salvador A, Moradas-Ferreira P. Why does SOD over expression sometimes enhance, sometimes decrease, hydrogen peroxide production? A minimalist explanation. *Free Radical Biology and Medicine* 2002; **32**(12): 1351–1357.
- Cimen B, Cimen OB, Eskandari G, Sahin G, Erdogan C, Atik U. In vivo effects meloxicam, celecoxib and ibuprofen on free dicarboxyl metabolism in human erythrocytes. *Drug and Chemical Toxicology* 2003; **26**(3): 169–176.
- Amin A, Hamza AA. Oxidative stress mediates drug-induced hepatotoxicity in rats: a possible role of DNA fragmentation. *Toxicology* 2004; **208**(3): 367–375.
- Bionaz M, Trevisi E, Calamari L, Librandi F, Ferrai A, Berton G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; **90**(1): 1740–1750.