مجله دیابت و لیپید ایران. زمستان ۱۳۸۳؛ دوره ۴ (شماره ۲):۲۱-۱۵

# بررسی عیار اتوآنتـــی بادی علیه انواع LDL تغییر یافته در بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبـــی عروقـــی

صدیقه عسگری*[۱]، مژگان قاری‌پور[۲]، غلامعلـی نادری[۳]، بابک ثابت[۴]، علیرضا خسروی[۵]، محمد هاشمی[۶]

## چکیده

**مقدمه:** آترواسکلروز، فرآیندی است که با هیپرکلسترولمی و ایجاد fatty streak آغاز می‌گردد. همچنین مطالعات قبلی نقش سیستم ایمنی را در این روند نشان داده‌اند. LDL (لیپوپروتیین با دانسیته کم) می‌تواند دچار تغییراتی گردد که از جمله مهمترین آنها اکسیداسیون می‌باشد. سیستم ایمنی، علیه LDL اکسید جدید تولید شده آنتی‌بادی اختصاصی می‌سازد. تیتر اتوآنتی‌بادی مذکور در جمعیت‌های انسانی به‌عنوان روشی تشخیصی در شناخت میزان پیشرفت آترواسکلروز بکار می‌رود. رابطه‌ای بین افزایش تیتر اتو آنتی‌بادی علیه اکسید LDL و نیز افزایش وقوع بیماری قلبی عروقی نشان داده شده است. در این مطالعه میزان اتوآنتی‌بادی علیه LDL اکساید ($Cu^{+2}$-LDL، MDA-LDL) و Native-LDL در بیماران آنژیوگرافی غیرطبیعی و آنژیوگرافی طبیعی و گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفته است.

**روش‌ها:** این مطالعه به شیوه موردی- شاهدی در سه گروه بیماران با آنژیوگرافی غیر طبیعی (دارای گرفتگی عروق کرونر)، بیماران با آنژیوگرافی طبیعی و افراد ظاهراً سالم بعنوان گروه شاهد انجام شد.تعداد نمونه درهرگروه ۲۰ نفر بود. تیتر اتوآنتی بادی علیه اکسید LDL گروه‌های مختلف با روش الایزا تعیین و سپس توسط آزمون آماری ANOVA مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که میانگین جذب مشاهده شده در مورد اتوآنتی‌بادی علیه اکسید LDL ناشی از مالون‌دی‌آلدیید در گروه‌ها بترتیب برابر با ۰/۴۱۵±۰/۳،۲/۵۵۱±۰/۳۶۱، ۰/۰۷۸±۰/۰۹۳ می‌باشد ($p<0/005$). مقدار اتوآنتی‌بادی علیه Native-LDL و نیز $Cu^{+2}$-LDL تفاوت معنی‌داری نداشته است.

**نتیجه‌گیری:** از آنجا که مقادیر اتوآنتی‌بادی علیه اکسید LDL بطور معنی‌دار در گروه آنژیوگرافی غیرطبیعی از افراد به ظاهر سالم و نیز افراد با آنژیوگرافی طبیعی بالاتر است، بنابراین تعیین مقادیر آنتی بادی جهت تشخیص بالینی سریع میزان پیشرفت آترواسکروز مفید می باشد.

**واژگان کلیدی:** بیماری‌های قلبی عروقی، آتوآنتی بادی LDL اکساید، الایزا

۱- Ph.D فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲- MSc بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳- Ph.D بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- M.D، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۵- متخصص قلب و عـروق، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۶- فوق‌تخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

***نشانی:** اصفهان، میدان جمهوری اسلامی، خیابان خرم، مرکز درمانی تحقیقاتی صدیقه طاهره(س)، صندوق پستی: ۱۱۴۸-۸۱۴۶۵؛ تلفن: ۳۳۵۹۶۹۶ و ۳۳۵۹۷۹۷- ۰۳۱۱ نمابر: ۳۳۷۳۴۳۵- ۰۳۱۱؛ پست الکترونیک: crc@mui.ac.ir

**تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۵/۲۰**
**تاریخ پذیرش مقاله: ۸۳/۱۰/۲۵**

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

## مقدمه

چگونگی فرآیندی که منجر به آترواسکلروز می‌شود، هدف تحقیقات بی‌شماری بوده و اکنون بسیاری از عوامل مؤثر در ایجاد آترواسکلروز شناخته شده‌اند. ظهور سلول‌های کف‌آلود در سطح آندوتلیوم، اولین علامت ایجاد ضایعه آترومی است [۱]، ماکروفاژهای خونی، سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، مونوسیت‌ها و نیز ذرات لیپوپروتیینی به‌ویژه لیپوپروتیین با وزن ملکولی کم (LDL) در ایجاد سلول‌های کف‌آلود نقش دارند [۲]. از سوی دیگر LDL می‌تواند در معرض تغییراتی همچون اکسیداسیون، استیلاسیون و یا متیلاسیون واقع شود [۳]. اخیراً نقش آنتی‌ژنی لیپوپروتیین‌های تغییر یافته به‌ویژه LDL اکساید (OX-LDL) در ایجاد آترواسکلروز به اثبات رسیده است.

LDLتغییر یافته از آنجا که پروتیین خارجی است لذا دارای خاصیت ایمنوژن است و می‌تواند سیستم ایمنی را به ساختن آنتی‌بادی اختصاصی تحریک کند [۴]. امروزه نشان داده شده است که سازوکارهای ایمنی در ایجاد و توسعه آترواسکلروز اثر دارند [۵]. آنتی‌ژن‌های متعددی در این واکنش‌های ایمنی نقش داشته‌اند [۶و۷] به‌طوری‌که اهمیت آنتی‌بادی‌های ضد LDL اکساید (OX-LDL) در مطالعات مختلف حیوانی و انسانی، در ایجاد آترواسکلروز مشخص شده است [۱۰-۸]. ولی به هر حال هنوز ارتباط دقیق بین اتوآنتی‌بادیهای (OX-LDL) در جریان خون و آترواسکلروز مشخص نگردیده است. بسیاری از مطالعات موردی-شاهدی افزایش این آنتی‌بادی را در بیماران مبتلا به آترواسکلروز نشان داده‌اند [۱۴-۱۱]. اما در برخی از مطالعات نیز چنین ارتباطی نشان داده نشده است [۱۶و۱۵]. با توجه به اختلاف گزارش‌هایی که در این مورد وجود داشته است، هدف این مطالعه مقایسه میزان اتوآنتی‌بادی علیه LDL اکساید توسط مس ($(Cu^{+2})$-OX-LDL)) و LDL اکساید توسط مالون دی آلدیید (MDA-OX-LDL) و نیز اثر آنتی‌بادی علیه LDL (Native-LDL) در بیماران با آنژیوگرافی مثبت و آنژیوگرافی منفی و گروه کنترل بوده است.

## روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی مورد-شاهدی می‌باشد. دو گروه از بیماران آنژیوگرافی مثبت و آنژیوگرافی منفی مجموعا" ۴۳ نفر بیمار مرد و زن (بدون محدودیت سن و جنس) مراجعه کننده به بخش آنژیوگرافی بیمارستان چمران اصفهان انتخاب شدند. گروه اول شامل بیمارانی بود که دچار گرفتگی عروق بودند و گروه دوم بیمارانی که آنژیوگرافی هیچ‌گونه گرفتگی را در آنان نشان نداد. گروه سوم متشکل از ۲۳ نفر افراد سالم بود (بدون سابقه دیابت، کلسترول و یا تری‌گلیسرید بالا). بیماران با تشخیص انفارکتوس حاد میوکارد AMI از مطالعه حذف شدند. آنژیوگرافی توسط روش استاندارد از طریق شریان فمورال راست انجام گردید، تشخیص و تعیین آنژیوگرافی مثبت و منفی بر اساس تعاریف انجمن قلب آمریکا[1] انجام شد. نمونه‌های خونی متعاقب ۱۴ ساعت ناشتا بودن و روز قبل از انجام آنژیوگرافی جمع‌آوری گردید.

### جداسازی لیپوپروتیین‌ها و تغییرات در آنها

LDL با دانسیته ۱/۰۱۹ g/ml <d<۱/۰۶۳ g/ml توسط اولتراسانتریفوژ با کمک شیب غلظتی KBr از جمع آوری سرم ۱۰ نفر داوطلب سالم جداسازی شد [۱۷] و میزان پروتیین موجود در LDL با متدلوژی تعیین گردید. به منظور اکسیداسیون LDL توسط مس از روش Steinbrecher etal استفاده گردید [۱۸]. جهت تهیه اپی‌توپ MDA-LDL از MDA تازه تهیه شده مطابق روش Fogleman استفاده شد. کلیهٔ مراحل روی یخ انجام گرفت [۱۹].

### تعیین مقادیر اتوآنتی‌بادی علیه $Cu^{+2}$-LDL و MDA-LDL

روش انتخابی، شیوه غیر رقابتی الایزا (non-competitive enzyme-linked immunosorbent) است. ۱/۳ پلیت مخصوص الایزا ۹۶ خانه‌ای با ۱۰۰ میکرولیتر از Cu+2-LDL، ۱/۳ دوم با ۱۰۰ میکرولیتر از MDA-LDL

[1] American Heart Association

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

(۵ µg/ml) در محلول بافر فسفات سالین (PBS) و ۱/۳ آخر با native-LDL پوشانیده شد. جهت جلوگیری از اکسیداسیون native-LDL ، از PBS حاوی ۲/۷ میلی مولار از EDTA و ۲۰ میلی مولار بوتیل‌هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده گردید. پلیت به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد انکوبه و پس از آن ۴ بار با PBS حاوی Tween 20 ۰/۰۵٪ ، BSA ۸٪ شستشو داده شد و سپس با PBS ۱٪ حاوی BSA ۵٪ بلوکه شد. پس از ۲ ساعت انکوباسیون در حرارت اطاق، پلیت مجددا" ۴ بار با PBS ۰/۱ میلی مولار شستشو داده شد و پس از آن نمونه پلاسما که به صورت ۱/۲۰ در PBS ۰/۱ میلی مولار حاوی BSA ۲٪ رقیق شده بود؛ به کل خانه‌های پلیت اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای اطاق انکوبه شد. سپس چهار بار با PBS ۰/۱ میلی مولار حاوی (توئین۲۰ ۰/۰۵٪ و BSA ۲٪) شستشو داده شد. آنتی IgG F انسانی متصل به آنزیم پراکسیداز تهیه شده از انستیتو پاستور تهران به میزان ml ۱۰۰ به هر چاهک افزوده و پس از آن سرم افراد که به صورت ۱/۳۰۰۰ در PBS (۰/۰۵٪ حاوی توئین ۲۰ و BSA ۰/۸٪ به پلیت افزوده و ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پس از چهار بار شستن با PBS ۰/۱ میلی مولار، سوبسترای پراکسیداز (ارتو- فنیل‌دی‌آمین OPD) به مقدار ml۱۰۰ با غلظت g/l۳ به بافر سیترات ۳/۵ میلی مولار حاوی پراکسید هیدروژن با pH=۵/۵ افزوده شد. واکنش در تاریکی انجام گرفته و با افزودن ml۱۰۰ از ۱ مولارHCl پس از ۳۰ دقیقه متوقف شد. جذب کلیه چاهک‌ها در nm۴۹۲ خوانده شد[۲۰].

## یافته‌ها

نتایج بدست آمده نشان داده است که مقدار اتوآنتی‌بادی علیه MDA-LDL در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق (با آنژیوگرافی مثبت) برابر با ۳/۵۵۱±۰/۴۵۱ و در گروه بیماران قلبی بدون گرفتگی عروق برابر با ۰/۳۶۱±۰/۲۰ و در گروه افراد شاهد (بدون سابقه ابتلا به بیماری قلبی) برابر ۰/۰۹۳±۰/۰۷۸ می‌باشد که تفاوت بین گروه‌های مختلف با گروه شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار است (جدول ۱). مقدار اتوآنتی‌بادی علیه Native-LDL در گروه بیماران شاهد در حد بیشترین مقدار و در گروه بیماران با آنژیوگرافی مثبت در حداقل مقدار موجود است که نمایانگر تبدیل LDL به OX-LDL می‌باشد و نهایتاً منجر به تشکیل مقادیر بیشتر اتوآنتی‌بادی علیه OX-LDL می‌شود. تفاوت مقادیر اتوآنتی‌بادی علیه $Cu^{+2}$-LDL بین گروه‌های مختلف قابل ملاحظه نمی‌باشد (اشکال ۳-۱).

## بحث

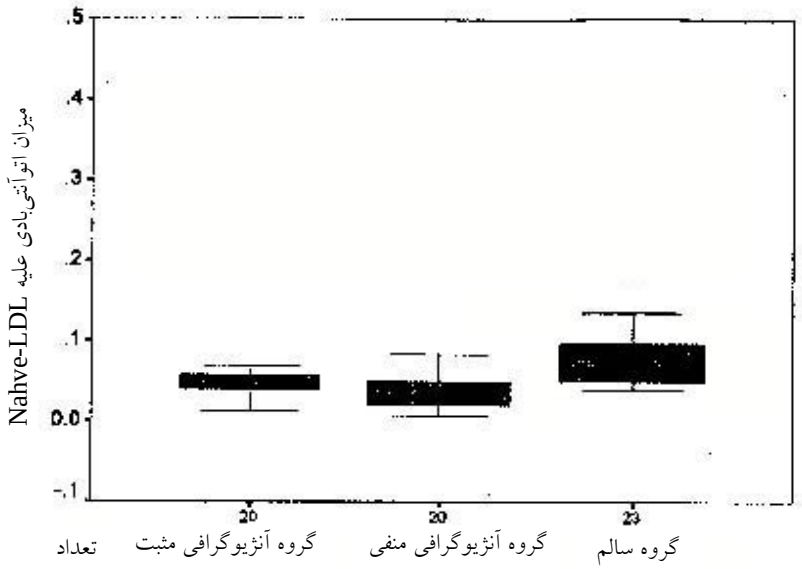
مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان اتوآنتی‌بادی علیه MDA-LDL در گروه بیماران با آنژیوگرافی مثبت بطور معنی‌داری بیش از سایر گروه‌ها می‌باشد. این در حالی است که مطالعه سالونن و همکاران نیز ارتباط مستقیم بین اتوآنتی‌بادی MDA-LDL و پیشرفت آترواسکلروز را نشان داده‌اند [۲۱].

**جدول۱- مقایسه تیتر اتوآنتی‌بادی علیه انواع LDL اکسید شده و نیز Native-LDL با روش الایزا**

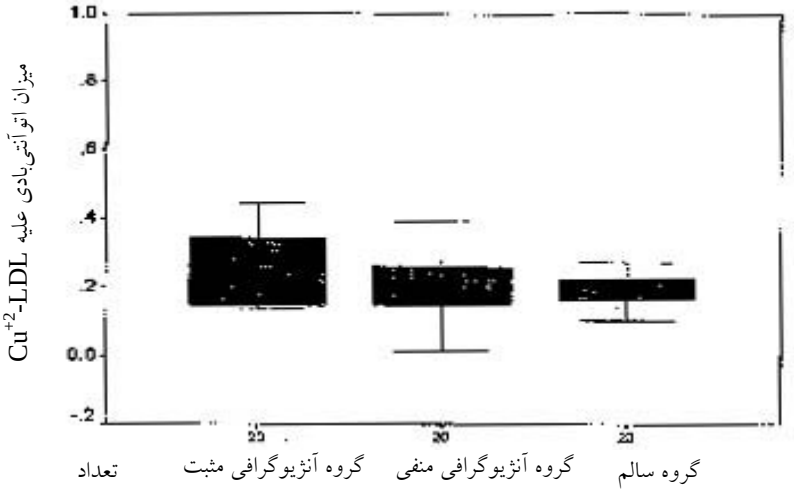
| گروه | Auto Anti MDA-LDL | Auto Anti Native-LDL | Auto Anti $Cu^{+2}$-LDL |
|---|---|---|---|
| گروه آنژیوگرافی مثبت n=20 | * ۳/۵۵۱±۰/۴۱۵ | ۰/۰۴۶±۰/۰۱۴ | ۰/۲۵۲±۰/۱۰۱ |
| گروه آنژیوگرافی منفی n=20 | * ۰/۳۶۱±۰/۲۰ | ۱/۰۷۶±۰/۶۲۶ | ۰/۲۳۹±۰/۱۴۶ |
| گروه کنترل n=23 | * ۰/۰۹۳±۰/۰۷۸ | ۱/۳۹۸±۰/۵۵۵ | ۰/۲۲۰±۰/۱۴۵ |

*P<۰/۰۵

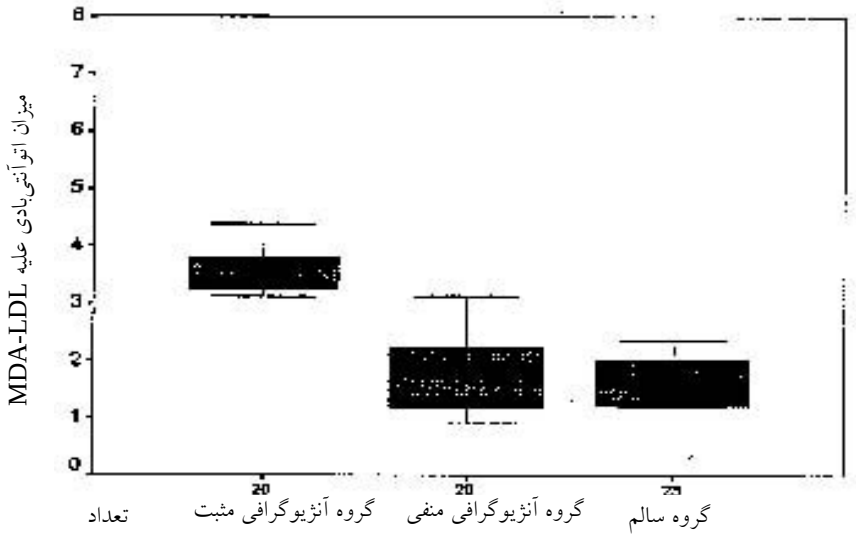
[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]




**شکل ۱- مقایسه پراکندگی تیتر اتوآنتی بادی علیه Native-LDL به روش الایزا**




**شکل ۲- مقایسه پراکندگی تیتر اتوآنتی بادی علیه OX-LDL به روش الایزا ( $Cu^{+2}$-LDL )**




**شکل ۳- مقایسه پراکندگی تیتراتوآنتی‌بادی علیه OX-LDL به روش الایزا (MDA-LDL)**

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

در برخی مطالعات نیز عدم تغییر اتوآنتی‌بادی علیه MDA-LDL در گروه‌های بیمار و کنترل نشان داده شده است. این گوناگونی ناشی از متدهای اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی است [۲۲]. زیرا در برخی از مطالعات از متد رادیوایمینواسی و برخی دیگر از متد الایزا استفاده شده است. به طور کلی فقدان روشهای استاندارد و یکسان در اندازه‌گیری این فاکتور توسط گروههای مختلف می‌تواند علت این تفاوت باشد [۲۳]. علاوه بر این، تعریف آترواسکلروز بین مطالعات مختلف متفاوت است. آنچه مهم است این‌که پاسخ‌های ایمنی، بسته به مرحله بیماری می‌تواند متفاوت باشد. برای مثال در موش‌های Apo E knockout در مرحلهٔ تشکیل fatty streak، پاسخ ایمنی به OX-LDL بسیار قوی است در صورتی که در سایر مراحل تشکیل پلاک این پاسخ کندتر می‌شود [۲۴]. پلاک‌های تازه حاوی سلول‌های کف‌آلود[1] و نیز OX-LDL هستند و احتمالاً سبب افزایش پاسخ ایمنی، علیه خود می‌شوند و بیشتر از پلاک‌های آهکی سیستم ایمنی را تحریک می‌کنند [۲۴]. همچنین مطالعات مختلف نشان داده است تحت شرایط طبیعی سیستم ایمنی نقش‌های مختلفی را در آترواسکلروز ایفا می‌کند. تحت شرایط پاتولوژیک سخت مثل هیپرکلسترولمیای شدید، این نقش ممکن است بوسیلهٔ لیپوپروتیین‌های پروآتروژن تحت تأثیر قرار گیرد. بنابراین اهمیت پاسخ‌های آنتی OX-LDL می‌تواند متفاوت باشد.

مطالعاتی نیز نشان داده است که میزان اتوآنتی‌بادی علیه MDA-LDL در طول دو سال مطالعه ارتباطی با میزان پیشرفت آترواسکلروز کاروتید گردن نداشته است [۲۶]. مطالعه حاضر نشان داده است که در بین سه گروه مورد مطالعه، میزان اتوآنتی‌بادی علیه $Cu^{+2}$-LDL تفاوت معنی‌داری نداشته است. مطالعه سالونن و همکارانش نیز مؤید نتایج این مطالعه می‌باشد. وی اعلام داشت تفاوت معنی‌داری بین میزان اتوآنتی‌بادی علیه $Cu^{+2}$-LDL در گروه‌های مختلف وجود نداشته است که احتمالا" ناشی از دانسیتهٔ کم اپی‌توپ‌های غالب آنتی‌بادی‌های OX-LDLمی‌باشد. با توجه به مطالعات انجام شده، تنوع زیادی در تیتر ظاهری آنتی‌بادی‌های نمونه‌های سرمی یکسان وجود دارد که به علت حضور غلظت‌های مختلف اپی‌توپ‌ها ناشی از روش آماده‌سازی می‌باشد. همچنین مطالعاتی نیز نشان داده است که اختلافاتی در واکنش آنتی‌بادی‌های OX-LDL هنگام استفاده از LDL اکسید شده توسط مس به عنوان آنتی‌ژن وجود دارد. چندین مطالعه موردی- شاهدی نیز افزایش تیتر اتوآنتی‌بادی علیه OX-LDL را در افراد مبتلا به بیماری عروق محیطی و افراد آنژیوگرافی مثبت نشان داده است [۲۷و۲۸]. در مطالعه‌ای میزان اتوآنتی‌بادی علیه OX-LDL در افراد مبتلا به انفارکتوس حاد میوکارد با افراد کنترل مقایسه شده و نتایج نشان داده است که در تمامی افراد در زمان پذیرش، میزان آن نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌دار($p<۰/۰۵$) افزایش داشته است و یک ماه بعد مقدار آن ($p<۰/۰۰۱$) کاهش یافته و به حد طبیعی رسیده که این امر می‌تواند بیانگر اهمیت این عوامل خطر در شروع MI باشد [۲۹].

در مطالعه‌ای نیز مشخص شده است که میزان این اتوآنتی‌بادی در دو گروه بیماران AMI و CAD با میزان گلبول‌های سفید همبستگی داشته ولی با میزان لیپید پروفایل ارتباطی نداشته است و بطور کلی میزان اتوآنتی‌بادی‌های OX-LDL، گلبول‌های سفید و CRP در افراد AMI نسبت به CAD بالاتر بوده و قله منحنی غلظت کراتین‌کیناز بطور معنی‌دار با میزان اتوآنتی‌بادی OX-LDL در افراد AMI در رابطه است[۳۰]. اگرچه میزان آنتی‌بادی مذکور در بیماران به آنژین ناپایدار نسبت به آنژین پایدار بیشتر بوده، مقادیر اکسی‌استرول‌ها در این دو گروه تفاوتی نداشته است که می‌تواند ناشی از تولید بیش از حد OX-LDL در افراد مبتلا به آنژین ناپایدار باشد. با توجه به نقش گسترده‌ای که انواع OX-LDL در ایجاد و توسعه بیماری‌های قلبی عروقی دارد، لذا ضروری به نظر می‌رسد مطالعاتی در جهت تعیین عملکرد گیرنده‌های ملکولی OX-LDL انجام گیرد.

## سپاسگزاری

این پژوهش بر اساس طرح تحقیقاتی شماره ۷۷۰۰۴ با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده و مؤلفین مراتب تقدیر و تشکر خود را از آن معاونت اعلام می‌دارند.

[1] Foam cell

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

# مآخذ


1. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenesis. *N Engl Med* 1989; 320: 915-24.
2. Newby AC, Libby P, Venereal AC. Plaque instability the real challenge for atherosclerosis research in the next decade? *Cardiovascular. Res*. 1999; 41: 321-322.
3. Cross C. Oxygen radical and human disease. Ann. Int. Med. 1987; 107: 326-545.
4. Hörrkkö S.Binder C.J Shaw PX.Chang M K.Silverman G. Palinski W.Role of oxidation in Atherosclerosis Free radical, biol. med. 2000;28:1771-1779.
5. Ross, R. Atherosclerosis an inflammatory disease. N. Engl. J. Med. 1999; 340:115-126.
6. Witztum J. L. Pulaski W. Are immunological mechanisms relevant for the development of Atherosclerosis? [editorial]. *Immunel*. 1999; 90:153-156.
7. Abraham, R. Choudhury, A. Bal, V. Rath S. Disruption of T cell tolerance by directing a self antigen to I macrophage-specific scavenger receptors. *J. Immune*. 1997; 158:4029- 4035.
8. Witztum, I. L.; Steinbrecher, U. P.; Kesiniemi, Y. A.; Fisher, M. Autoantibodies to glucosylated proteins in the plasma of patients with diabetes mellitus. Proc. *Natl. Acad. Sci*. 1984; 81:3204-3208.
9. Steinbrecher, U. P.; Fisher, M.; Witztum, I. L.; Curtis, L. K. Immunogenicity of homologous low density lipoprotein after methylamine, ethylating, acetylating, or carbamylation: generation of antibodies specific for derivative lysine. *J. Lipid Res*. 1984; 25: 1109-1116.
10. Palinski, W. Rosenfeld, M. E. Ylii-Herttuala, S. Gurtner, G. C. Socher, S. S. Butler, S. W. Parthasarathy, S. Carew, T. E. Steinberg, D. Witztum, I. L. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1989; 86: 1372-1376.
11. Bui M. Sack M. Moutsatsos G, Lu D, Katz P, McCown R, Breall J, Rackley C. Autoantibody titers to oxidized low-density lipoprotein in patients with coronary atherosclerosis. *Am Heart J*. 1996; 131: 663-667.
12. Maggi E. Marchesi E. Ravetta V. Martignoni A, Finardi G, Bellomo G. Presence of autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoprotein in essential hypertension: a biochemical signature of an enhanced in vivo low-density lipoprotein oxidation. *J Hypertens*. 1995; 13:129-138.
13. Bergmark C, Wu R, de Faire U, Lefvert AK, Swedenborg J. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 1995; 15: 441-445.
14. Puurunen M, Manttari M, Manninen V, Tenkanen L, Alfthan G, Ehnholm C, Vaarala O, Aho K, Palosuo T. Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med*. 1994; 154: 2605-2609.
15. Uusitupa M, Njskanen L, Luorna J, Vilja P, Mercuri M, Raurarnaa R, Yla-Herttuala S. Autoantibodies against oxidized LDL do not predict atherosclerotic) vascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16: 1236-1242.
16. Van de Vijer L, Steyger R, Poppel G, Boer J, Kruijssen D, Seidell J, Princen H. Autoantibodies against MDA-LDL in subjects with severe and minor athtrosclerosis and healthy population controls. *Atherosclerosis*. 1996; 122: 245-253.
17. Lopes-virella M, Koskinen S, Mironova M, Horne D, Klein R, Chasserean C, Enockson C, Virella G. The preparation of Copper-oxidized LDL for measurement of oxidized LDL for measurement of oxidized LDL antibodies by EIA. *J Atherosclerosis* 152(2000)-107-115.
18. Steinbrecher UP. Oxidation of human low density lipoprotein results in derivatization of lysine residues of apolipoprotein B by lipid peroxide decomposition products. *j Biol Chem* 1987, 262:3603-8
19. Harberland M.E. Fogelman A.M. Edwards S.p. Specificity of receptor-mediated recognition of Malondialdehyde modified low density lipoproteins. P*roos. Natl. Acad.* Sci,1982; vol.79, march.1712-1716.
20. Fogelman A.M.Shecter I. Sager J. Hickman M.Child J s.Edwards P.A.1980.*Proc.Natl.Acad.Sci.* 1980;77.
21. Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Hcrtuala Set al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sc*: 1989.86.1372-1376
22. Salonen, I. T. Ylii-Herttuala, S. Yamamoto, R. Butler, S. Carpel, H. Salonen, R. Nyyssonen, K. Palinski, W. Witztum, I. L. Autoantihody against oxidized LDL and progression of carotid Atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339:883-887.
23. Hanson G.K. Cell mediated immunity in Atherosclerosis.*Curr.Opin.Lipidol*. 1999; 8: 301-311.
24. Palinski W, Horkko S, Miller E, Steinbrecher UP, Powell HC, Curtiss LK, Witztum JL. Cloning of monoclonal autoantibodies to epitopes of oxidized lipoproteins from apolipoprotein E-deficient mice: demonstration of epitopes of oxidized low density lipoprotein in human plasma. *J Clin lnvest*. 1996; 98: 800-814.
25. Libby, P. Hanson G. K. Pober J. S. Atherogenesis and inflammation. In: Chien, K. R. Molecular basis of cardiovascular atherclerosis. *Curr. Opin. Lipidol* 1997; 8: 301-311.
26. Virella G, Yirella I, Leman RB, Pryor MB, Lopcs-Virella MF. Anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies in patients with coronary heart disease and normal healthy volunteers. *Int 1 Clin Lab Res* 1993; 23:95-101.


[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

27. Ylii-Herttuala, S. Palinski, W. Rosenfeld, M. E. Parthasarathy, S. Carew, T. E. Butler, S. Witztum, I. L. Steinberg, D. Evidence for the presence of ox datively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest.* 1989; 84:1086-1095.
28. Reaven, P. D. Napoli, C. Merat, S. Witztum, I. L. Lipoprotein modification and Atherosclerosis in aging. *Exp. Gerentol*. 2000; 34:527- 537.
29. Inone T, Yaguchi I, Uchida T, Kamishirado H, Nakahara S, Hagashi T, Morooka S. Clinical significance of the antibody against oxidized low-density lipoprotein in acute myocardial infarction. *Cardiology*, 2002; 98(1-2): 13-17.
30. Tsai WC, Li YH, Chao TH, Chen JH. Relation between antibody against oxidized LDL and extent of coronary atherosclerosis. *J Formoss Med Assoc* 2002; Oct, 101(10): 681-4.

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]