

# Perfil Lipídico y estado oxidativo en pacientes con Enfermedad Vascul ar Periférica

María Fenollar<sup>1</sup>  
M<sup>a</sup> Soledad Parra<sup>2</sup>  
M<sup>a</sup> Dolores Albaladejo<sup>3</sup>  
Norberto Cassinello<sup>4</sup>

<sup>1</sup>MIR 3<sup>er</sup> año  
Bioquímica Clínica  
Hospital Clínico  
San Carlos de Madrid  
Licenciada  
en Bioquímica  
por la Universidad  
de Murcia  
<sup>2</sup>Dra. en Farmacia  
(Univ. Complutense  
de Madrid)  
Hospital Universitario  
Virgen de la Arrixaca  
Murcia  
<sup>3</sup>Dra. en Medicina  
(Universidad de  
Alicante)  
Hospital Universitario  
Virgen de la Arrixaca  
Murcia  
<sup>4</sup>Dr. en Medicina  
(Universidad de  
Murcia)  
Hospital Universitario  
Virgen de la Arrixaca  
Murcia

Correspondencia:  
M<sup>a</sup> Soledad Parra  
msoledad.parra@carm.es

## Resumen

**Antecedentes:** La enfermedad arterial periférica (EAP) es una manifestación de aterosclerosis sistémica. La hipótesis de la oxidación considera la participación de la LDL oxidada desde el inicio del proceso aterogénico.

**Objetivos:** Establecer la relación entre los niveles plasmáticos de lípidos y parámetros relativos a la oxidación y la progresión de EAP.

**Material y métodos:** Analizamos en 41 pacientes con EAP, perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, apo A1 y apo B, lipoproteína (a), LDL oxidada y sus anticuerpos. También medimos el contenido en colesterol y triglicéridos de las tres lipoproteínas principales (HDL, LDL y VLDL). El análisis estadístico ha consistido en un ANOVA y regresión múltiple.

**Resultados:** LDL-colesterol y apo B están más elevados significativamente en los pacientes con claudicación intermitente (grupo IIb). No encontramos incrementados los niveles de lípidos ni los parámetros oxidativos en los grupos III-IV.

**Conclusiones:** LDL oxidada y sus anticuerpos, los niveles de lípidos y el estado oxidativo total, no se correlacionan con la progresión de la EAP.

**Palabras clave:** Enfermedad arterial periférica (EAP). Lipoproteínas de baja densidad oxidadas (ox-LDL). autoanticuerpos frente a lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OLAB).

## Summary

**Background:** Peripheral arterial disease (PAD) is a manifestation of systemic atherosclerosis. The oxidative modification hypothesis predicts that low-density lipoprotein (LDL) oxidation is an early event that contributes to atherogenesis.

**Objectives:** The aim of this study was to correlate the progression of PAD with plasma levels of lipidic and oxidative related parameters.

**Design and methods:** 41 patients with PAD were examined. Analysis of total cholesterol and triglyceride, apolipoproteins A-I and B, lipoprotein (a), oxidized LDL and its autoantibodies, as well as cholesterol and triglyceride in very-low, low and high density lipoproteins (VLDL, LDL and HDL) were determined. Statistical analysis consisted of ANOVA and multiple regression.

**Results:** LDL-cholesterol and apo B levels were significantly higher in those patients with intermittent claudication (group IIb). We did not find increased levels of lipidic or oxidative parameters in the groups III-IV.

**Conclusions:** Oxidized LDL and its autoantibodies, lipid levels and total antioxidant status are not correlated with the progression of PAD.

**Key words:** peripheral arterial disease (PAD), oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL), autoantibodies against low-density lipoprotein (OLAB).

## Introducción

La Enfermedad Vascul ar Periférica (EAP) es una patología del sistema arterial del organismo que puede manifestarse clínicamente de manera diferente en función del grado de afectación en los distintos sectores anatómicos del sistema arterial. Se acompaña de claudicación intermitente de extremidades cuando las arterias infrarrenales o el eje subclavio-axilar son las más afectadas. Si la enfermedad tiene un mayor desarrollo en los territorios carotídeos o coronarios, las manifestaciones clínicas vendrán dadas por el accidente cerebrovascular o cardiopatía isquémica. En cualquier caso, y a pesar de la diversidad de presentación clínica de la enfermedad, dos elementos son comunes, la etiología (aterosclerosis) y la progresividad. Clásicamente el término EAP se refiere a la afectación del sistema arterial infrarrenal y ejes femoropoplíteo, siendo su expresión clínica la claudicación intermitente (CI) de extremidades inferiores que puede definirse como dolor en la extremidad que se desencadena con el ejercicio y se alivia o incluso desaparece con el reposo, quedando enmarcada dentro de la clasificación de Fontaine que define perfectamente los grados evolutivos de la enfermedad<sup>1</sup>, de modo que el diagnóstico puede hacerse sólo sobre la base del interrogatorio en la gran mayoría de los casos. Ahora bien, dado que la EAP no es únicamente un tras-

torno hemodinámico, hay factores adicionales implicados en la patogénesis y el desarrollo de la enfermedad por lo cual debe ser una prioridad terapéutica su prevención y la búsqueda de marcadores relacionados con la progresión de la patología; existen los ya conocidos factores de riesgo lipídicos, LDL-colesterol<sup>2</sup> y triglicéridos<sup>3</sup>; las lipoproteínas *modificadas*<sup>4</sup> y el stress oxidativo<sup>5</sup>.

Las modificaciones oxidativas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituyen un factor aterogénico importante; en la última década se ha consolidado la teoría oxidativa de la aterosclerosis, que considera la lesión arterial inicial, la estría grasa y su progresión a placa de ateroma íntimamente asociadas a la acumulación en macrófagos de LDL que han sido *mínimamente oxidadas*. En modelos animales está demostrada la participación de LDL oxidada así como sus anticuerpos<sup>6,7</sup>, en el desarrollo inicial de aterosclerosis y en la respuesta oxidativa al proceso inflamatorio, pero no está claro en humanos<sup>8</sup>. Como acontecimiento secundario a la aterosclerosis, se desarrolla stress oxidativo<sup>9</sup>.

Nuestro objetivo en este trabajo ha sido valorar la posible relación existente entre la progresión de la enfermedad arterial periférica (EAP) y algunos factores íntimamente relacionados con el proceso ateroclerótico, como parámetros lipídicos: colesterol, triglicéridos, apo A-I, apo B y lipoproteínas (HDL-colesterol, LDL-colesterol, y lipoproteína (a)), así como otros analíticos relacionados con el estado oxidativo, LDL oxidada, estatus total antioxidante y anticuerpos frente a LDL oxidada.

Dado que la hipertrigliceridemia se asocia con la progresión y las complicaciones sistémicas de la EAP<sup>10,11</sup>, hemos considerado interesante analizar también el contenido en triglicéridos en cada una de las fracciones de lipoproteínas: de alta densidad (HDL), de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL), al objeto de valorar nuestros resultados con otros datos bibliográficos y cuestionar la utilidad de estos parámetros dentro del marco clínico que rodea la patología y complicaciones de esta enfermedad.

## Material y métodos

### Material

De un total de 200 pacientes afectados de EAP que acudían al Servicio de Cirugía Cardiovascular, hemos seleccionado 41 sin tratamiento antilipemiente y sin factores de riesgo añadidos: no diabéticos, no hipertensos y no fumadores, con edades comprendi-

das entre 36 y 82 años ( $61 \pm 13$  años), y género masculino en un 75% y femenino en un 25%.

Los grupos se han considerado de acuerdo a la clasificación de Fontaine en: grado I - asintomático; grado II - claudicación intermitente con la subclasificación de IIa y IIb si la claudicación es o no invalidante; grado III - dolor de reposo y grado IV - lesiones tróficas con isquemia crítica de la extremidad. El número de pacientes en cada grupo ha sido: grupo I (n=6), grupo 2a (n=8), grupo 2b (n=7), grupo III-IV (n=9), y como grupo control (n=11) hemos utilizado personas que acudían a la consulta pero sin patología vascular.

### Métodos

Para el diagnóstico clínico de la enfermedad se ha realizado una anamnesis cuidadosa, así como pruebas de laboratorio vascular, exploración con Doppler y medición de índice tobillo-brazo, además de estudio arteriográfico convencional en aquellos pacientes que, en función de los resultados de las pruebas antes mencionadas, podían ser candidatos a cirugía. Asimismo, se les realizó una analítica básica, que incluía bioquímica general, hemograma y pruebas de coagulación.

Para evaluar el perfil lipídico se cuantificaron las concentraciones de colesterol total, triglicéridos, HDL-colesterol y lipoproteínas apo A-I, apo B y Lp(a) en un autoanalizador modular DP (Roche diagnostics, Germany), utilizando los reactivos suministrados por el fabricante. LDL-colesterol se calculó de forma aproximada utilizando la fórmula de Friedewald<sup>12</sup>.

La separación de las lipoproteínas HDL, LDL y VLDL y la posterior cuantificación de colesterol y triglicéridos en cada una de ellas se realizó utilizando un método de ultracentrifugación en gradiente de densidad isopícnico, con rotor vertical a 65.000 rpm y 10°C de temperatura<sup>13</sup>.

Para evaluar el estado antioxidante se cuantificó el status total antioxidante mediante una reacción colorimétrica en la que los antioxidantes presentes en el plasma producen una disminución del desarrollo de color proporcional a su concentración (Randox Laboratories Ltd., United Kingdom). Los niveles de LDL oxidada se cuantificaron mediante un inmunoensayo competitivo utilizando el anticuerpo monoclonal específico 4E6 etiquetado con biotina (Merckodia AB, Sweden)<sup>14</sup>. La determinación de los anticuerpos séricos frente a LDL oxidada (OLAB) se llevó a cabo con un enzoinmunoanálisis cuantitativo directo, en el que los autoanticuerpos presentes en el suero se

ligan específicamente al antígeno (LDL-oxidada) que recubre la placa (Biomédica Gruppe, Wien)<sup>15,16</sup>.

Para el tratamiento estadístico de los datos se realizó un análisis ANOVA y un análisis de regresión múltiple, mediante el programa estadístico SPSS 10.0.

## Resultados

La Tabla 1 muestra la concentración media de los parámetros lipídicos básicos estudiados: colesterol, triglicéridos, HDL-colesterol, LDL-colesterol, apo A-I, apo B y Lp (a). Curiosamente el grupo IV es el que presenta la cifra más baja de colesterol con diferencias significativas respecto al grupo control; apo B y LDL-col son también inferiores y presentan diferencias significativas respecto al grupo control. No ocurre lo mismo con la Lp (a), en la que es el grupo de mayor elevación pero con una gran variabilidad y sin diferencias significativas.

El grupo IIb es el que tiene cifras más elevadas de colesterol y de LDL-col y apo B (éstas dos elevadas significativamente respecto al grupo control).

Los resultados de la ultracentrifugación que nos han permitido cuantificar el contenido en colesterol y triglicéridos de las lipoproteínas están reflejados en la Tabla 2. El contenido en colesterol de las lipoproteínas de baja densidad es mayor significativamente en el grupo IIb y menor significativamente en el grupo I respecto al grupo control. En cuanto a los triglicéridos, el contenido de los mismos en las lipoproteínas no presenta diferencias significativas entre los grupos así como tampoco en un grupo determinado frente al grupo control.

La Tabla 3 expresa la concentración media de antioxidantes totales, así como concentraciones medias de LDL oxidada y de los anticuerpos anti-LDL. Si bien el grupo que presenta cifras más elevadas de anticuerpos anti-LDL es el grupo IIb, no hay significación estadística. Respecto a LDL oxidada, las cifras son muy semejantes en todos los grupos.

Tabla 1.  
Concentración media de los parámetros lipídicos estudiados

	Grupo control (n=11)	Grupo I (n=6)	Grupo II a (n=8)	Grupo II b (n=7)	Grupo III-IV (n=9)
Colesterol (mg/dl)	206.9(54.5)	175.8(31.4)	208.1(32.6)	234.7(32.2)	169.4*(43.6)
Triglicéridos (mg/dl)	142.0(92.4)	169.8(174.1)	173.6(76.7)	120.3(31.8)	93.0(36.1)
HDL-colesterol (mg/dl)	48.0(7.9)	50.3(18.9)	47.5(11.5)	52.0(12.3)	45.3(13.5)
LDL-colesterol calculado (mg/dl)	130.4(39.6)	98.6*(28.9)	125.9(30.3)	161.0*(28.9)	105.4*(35.0)
Apo A-I (mg/dl)	130.4(17.4)	116.3(19.5)	132.9(25.5)	133.8(18.3)	109.6(24.5)
Apo B (mg/dl)	109.1(28.8)	85.0*(11.3)	107.0(23.9)	132.1*(18.7)	89.1*(24.4)
Lipoproteína (a) (mg/dl)	36.0(39.0)	76.0(62.3)	15.1(15.0)	61.9(70.3)	115.7(151.7)

Valores expresados como media y (desviación estándar)

Tabla 2.  
Colesterol y triglicéridos de las lipoproteínas HDL, LDL y VLDL obtenidos por ultracentrifugación

	Grupo control (n=11)	Grupo I (n=6)	Grupo II a (n=8)	Grupo II b (n=7)	Grupo III-IV (n=9)
Colesterol de lipoproteínas por ultracentrifugación (mg/dl)					
HDL-colesterol	49.8 (15.9)	50.3 (18.9)	53.0 (11.1)	66.7 (12.6)	55.8 (18.3)
LDL-colesterol	121.5 (37.7)	96.2* (26.8)	115.0 (21.9)	148.9* (28.3)	101.6 (35.5)
VLDL-colesterol	17.2 (10.8)	24.0 (20.9)	24.0 (12.7)	14.9 (2.9)	12.3 (7.0)
Triglicéridos de lipoproteínas por ultracentrifugación (mg/dl)					
HDL-triglicéridos	24.0 (17.4)	28.8 (15.1)	23.5 (7.8)	21.7 (5.9)	18.9 (4.2)
LDL-triglicéridos	41.6 (10.3)	36.9 (13.9)	47.2 (12.2)	44.9 (11.5)	37.4 (11.9)
VLDL-triglicéridos	61.6 (60.6)	96.6 (149.4)	79.3 (46.0)	49.6 (19.8)	30.2 (22.9)

Valores expresados como media y (desviación estándar)

	Grupo control (n=11)	Grupo I (n=6)	Grupo II a (n=8)	Grupo II b (n=7)	Grupo III-IV (n=9)
LDL oxidada (U/l)	59.6(16.2)	56.0(21.5)	58.4(19.9)	58.0(16.1)	49.2(15.5)
Anticuerpos anti-LDL oxidada(mU/ml)	265.7(154.8)	170.9(53.6)	302.6(258.8)	353.1(310.3)	270.0(139.5)
Antioxidantes totales(mmol/l)	1.27(0.13)	1.31(0.20)	1.24(0.15)	1.12(0.01)	1.32(0.16)

Valores expresados como media y (desviación estándar)

Tabla 3.  
Concentración media de antioxidantes

## Discusión

A la vista de nuestros resultados, observamos en la Tabla 1, que el grupo de pacientes con EAP cuyos parámetros lipídicos son más patológicos es el grupo IIb, estando elevados significativamente respecto al grupo control LDL y apo B; curiosamente el grupo IV que podíamos pensar que era el de mayor patología lipídica y aterosclerótica, tiene las cifras de colesterol, apoB y LDLcolesterol significativamente más bajas. Las referencias bibliográficas relativas a la lipemia de los pacientes aquejados de EAP son muy diversas<sup>17-20</sup>, aunque en general el perfil de riesgos lipídicos para los pacientes con EAP es semejante entre los que padecen claudicación (grupos I y II) y los que tienen isquemia crítica crónica de las extremidades (grupos III y IV de Fontaine). Si bien no hay datos sobre las recomendaciones para la población con isquemia grave de extremidades inferiores, la extrapolación de los que padecen claudicación, así como las del National Cholesterol Education Program Guidelines, recomiendan un tratamiento agresivo de reducción de los niveles de colesterol LDL (<100mg/dl) y elevación de HDL. Estas recomendaciones podrían justificar los resultados encontrados en nuestros pacientes ya conocedores de su enfermedad y por tanto mentalizados con los factores de riesgo cardiovascular y las recomendaciones lipídicas.

Los resultados obtenidos de la ultracentrifugación que nos han permitido cuantificar el contenido de colesterol y triglicéridos de las lipoproteínas (Tabla 2), no son más patológicos a medida que progresa la enfermedad; siguen confirmándose los parámetros lipídicos de mayor riesgo en el grupo IIb (colesterol de LDL aumentado significativamente respecto al grupo control) y el grupo I presenta una cifra más baja y menos patológica que el grupo control. El contenido en triglicéridos de las lipoproteínas no nos aporta información, pues todos los grupos tienen cifras semejantes. Sólo el contenido en triglicéridos de la VLDL es más alto en el grupo I, que a su vez es el grupo que presenta un colesterol de LDL significativamente más bajo respecto al grupo control.

Los parámetros de laboratorio relacionados con la progresión de la enfermedad aterosclerótica (Tabla 3) nos han sorprendido igualmente ya que los antioxidantes totales no se modifican prácticamente a medida que avanza la enfermedad al igual que la LDL oxidada; respecto a LDL oxidada hay pocas referencias y los datos son discrepantes, ya que si se deposita en el espacio subíntimo, no debería estar en la circulación. Dada la complejidad estructural de la LDL oxidada, algunos autores refieren que la respuesta inmune requiere una adaptabilidad que puede cuestionar su relación directa con el estadio de la lesión<sup>21</sup>.

Otra posible explicación a esto podría estar de acuerdo con la teoría de Sigurdardottir<sup>22</sup> de que las concentraciones plasmáticas de LDL oxidada se asocian con la LDL pequeña y densa, y las cifras plasmáticas son bajas en pacientes que no tienen factores de riesgo, por lo que podríamos cuestionarnos si hay poca LDL pequeña y densa en los pacientes con EAP sin factores de riesgo añadidos.

Respecto a los anticuerpos antiLDL oxidada, los datos analíticos según la Tabla 3 son más patológicos en el grupo IIb. Shoji<sup>23</sup> ha demostrado una relación inversa entre LDL oxidada circulante y el título de anticuerpos anti-LDL oxidada en sujetos sanos, nosotros no observamos esta relación y tampoco la relación directa LDL oxidada - LDL total; por el contrario, los pacientes con EAP muestran una relación directa LDL colesterol y anticuerpos anti LDL oxidada. Algunos autores<sup>24</sup> encuentran niveles elevados de LDL oxidada en pacientes con patologías cardíacas (IM) considerándolo marcador de enfermedad cardiovascular; nuestros resultados no nos permiten relacionarla con la progresión de la enfermedad y nos hacen pensar que quizás los lípidos periféricos no afectan demasiado a la EAP y la progresión de la misma no guarde relación con el proceso de oxidación *in vivo* o bien que las modificaciones oxidativas en el plasma no progresan con las condiciones patológicas de la EAP.

Podemos concluir tras el análisis que el perfil lipídico de los pacientes con enfermedad vascular periférica

observados transversalmente, identifica al grupo IIb con parámetros lipídicos más aterogénicos y también con mayor stress oxidativo: LDL colesterol, apo B y anticuerpos anti -LDL oxidada.

Serían necesarios estudios posteriores, especialmente hacer un seguimiento longitudinal en un periodo de 3 a 5 años, que permitiera valorar mejor las complicaciones cardiovasculares desarrolladas en estos pacientes y confirmar el papel de la LDL oxidada como marcador de riesgo de las mismas aislada o asociada a otros factores.

## Bibliografía

- Fontaine R, Kim M, Kieny R. Die chirurgische Behandlung der peripheren Durch-blutungsstörungen. *Helvetica Chirurgica Acta* 1954;5(6):199-533.
- Pomrehn P, Duncan B, Weissfeld L, Wallace RB, Barnes R, Heiss G, et al. The association of dyslipoproteinemia with symptoms and signs of peripheral arterial disease: the lipids research clinics program prevalence study. *Circulation* 1986;73(Suppl 1):I-100-I-107.
- Hughson WG, Mann JI, Garrod A. Intermittent claudication: prevalence and risk factors. *Br Med J* 1978;11:1379-81.
- Parra Pallarés S, Albaladejo Otón MD, Martínez Hernández P. Modificaciones cualitativas de las lipoproteínas. *Anales de Medicina Interna* 2000;17(6):317-23.
- Witzum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344: 793-795.
- Ylä-Herttua, Palinski SW, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler SW, Witzum JL and Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 1989;84:1086-95.
- Shaw PX. Rethinking oxidized low-density lipoprotein, its role in atherogenesis and the immune responses associated with it. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2004;52(4):225-39.
- Witzum JL, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? *Trends Cardiovasc Med* 2001;11(3-4):93-102.
- Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84(4):1381-478.
- Smith I, Franks PJ, Greenhalg RM, Poulter NR, Powell JT. The influence of smoking cessation and hypertriglyceridemia on the progression of peripheral arterial disease and the onset of critical ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996;72:513-8.
- Gofin R, Kark JD, Friedlander Y, Lewis BS, Witt H, Stein Y, et al. Peripheral vascular disease in a middle-aged population sample. The Jerusalem Lipid Research Clinic Prevalence Study. *Isr J Med Sci* 1987;23:157-67.
- Friedewald WT, Levy RJ, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
- Martínez-Hernández P, Fenollar-Cortés M, Albaladejo-Otón M, Parra-Pallarés S. Evaluation of a simple ultracentrifugation method to separate and quantificate plasmatic lipoproteins. *Clin Chem* 2002;48(6S): A113.
- Karen A Kramer, John F O'Brien, Josph P McConnell Mayo. *Oxidized LDL: Evaluation of an ELISA Method for Potential Use as a Marker of Cardiovascular Risk*. Presented at the 2003 AACC Annual Meeting in Philadelphia. Rochester, MN, USA.: Clinic and Foundation, 2003.
- Tatzer F, Wonisch W, Schmidl E, Esterbauer H. Quantitative determination of oLab titers in various animal species. *Biofactors* 1997;6(2):125-30.
- Waeg G, Dimsity G, Esterbauer H. Monoclonal antibodies for detection of 4-hydroxynonenal modified proteins. *Free Radic Res* 1996;25(2):149-59.
- Zimmerman BR, Palumbo PJ, O'Fallon WM, Ellefson RD, Osmundson PJ, Kkaszmir FJ. A prospective study of peripheral occlusive arterial disease in diabetes. III: initial lipid and lipoprotein findings. *Mayo Clinic Proc* 1981;6:233-242.
- Pujia A, Gnasso A, Mancuso G, Spagnudo M, Cosco C, Cortese C, et al. Arteriopatia asintomatica degli arti inferiori. Prevalenza e fattori di rischio in una popolazione del sud Italia. *Minerva Cardioangiol* 1993; 41:13-138.
- Kannel WB, McGee DL. Update on some epidemiological features of intermittent claudication. *J Am Geriatr Soc* 1985;33:13-8.
- Kannel WB, Skinner JJ Jr, Schwartz MJ, Shurtleff D, et al. Intermittent claudication: incidence in the Framingham study. *Circulation* 1990;82:1925-31.
- Shaw PX. Rethinking oxidized low-density lipoprotein, its role in atherogenesis and the immune responses associated with it. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2004;52(4):225-39.
- Sigurdardottir V, Fagerberg B and Hulthe J. Circulating oxidized low-density lipoprotein (LDL) is associated with risk factors of the metabolic syndrome and LDL size in clinically healthy 58-year-old men (AIR study). *Journal of Internal Medicine* 2002;252:440-7.
- Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kmura J, Kanda H, Emoto M, Kawaagshi T, Morii H. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein(oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2000;148(1):171-7.
- Itabe H. Atherosclerosis and sensitive determination of oxidized LDL using monoclonal antibody. *Yakugaku Zassh* 2002;122(10):745-53.