

СВЯЗЬ АТЕРОГЕННЫХ ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ОТДАЛЕННЫМ ПРОГНОЗОМ В МУЖСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Рагино Ю. И., Воевода М. И., Малютин С. К., Гафаров В. В., Шишкин С. В., Богатырев С. Н., Щербакова Л. В., Полонская Я. В.

Цель. Изучение связи исходных показателей потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений липопротеинов низкой плотности (ЛНП) с неблагоприятным 7-летним отдаленным прогнозом.

Материал и методы. В популяции мужчин (1024 человека в возрасте 47-73 лет) биохимическими методами определяли показатели исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ЛНП, концентрации в ЛНП антиоксидантов (альфа-токоферола, бета-каротина, ретинола, ксантинов), концентрации в крови антител к окисленным ЛНП (окЛНП). Далее, в течение 7 лет с использованием данных Регистров оценивали развитие конечных точек — инфаркт миокарда, инсульт, общая и сердечно-сосудистая смертность (ССС).

Результаты. Выявлены значимые ассоциации исходного уровня продуктов в ЛНП ($p=0,019$, Hazard Ratio, HR=1,39) и резистентности ЛНП к окислению на начальной стадии ($p=0,048$, HR=1,18) со случаями инсульта. Также выявлены значимые ассоциации концентрации бета-каротина в ЛНП ($p=0,034$, HR=0,98) и концентрации антител к окЛНП ($p=0,041$, HR=0,99) со случаями СССР в 7-летней проспекции.

Заключение. Полученные результаты отражают важную патогенетическую роль атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений частиц ЛНП в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений.

Российский кардиологический журнал 2016, 12 (140): 45–48
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-12-45-48>

Ключевые слова: популяция мужчин, окисленные липопротеины низкой плотности, антиоксиданты, 7-летние отдаленные результаты, инсульт, сердечно-сосудистая смертность.

ФГБНУ НИИ терапии и профилактической медицины, Новосибирск, Россия.

Рагино Ю. И.* — д.м.н., профессор РАН, руководитель Лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор, Малютин С. К. — д.м.н., профессор, руководитель Лаборатории этиопатогенеза и клиники терапевтических заболеваний, Гафаров В. В. — д.м.н., профессор, руководитель Лаборатории психологических и социологических проблем терапевтических заболеваний, Шишкин С. В. — к.м.н., с.н.с. Лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, Богатырев С. Н. — к.м.н., с.н.с. Лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, Щербакова Л. В. — с.н.с. Лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, Полонская Я. В. — к.б.н., с.н.с. Лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): ragino@mail.ru

АД — артериальное давление, АКМ — активные кислородные метаболиты, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИМТ — индекс массы тела, МДА — малоновый диальдегид, окЛНП — окисленно-модифицированные липопротеины низкой плотности, ОШ — отношение шансов, ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты, ПОЛ — перекисное окисление липидов, САД — систолическое артериальное давление, СССР — сердечно-сосудистая смертность, ХС — холестерин.

Рукопись получена 25.06.2015

Рецензия получена 14.07.2015

Принята к публикации 21.07.2015

THE RELATION OF ATHEROGENIC OXIDATIVE-ANTIOXIDANT SHIFTS IN LOW DENSITY LIPOPROTEIDES WITH ADVERSE LONG-TERM PROGNOSIS IN MALES

Ragino Yu. I., Voevoda M. I., Malyutina S. K., Gafarov V. V., Shishkin S. V., Bogatyrev S. N., Scherbakova L. V., Polonskaya Ya. V.

Aim. To study the baseline parameters of potentially atherogenic oxidative-antioxidant changes of low-density lipoproteides (LDL) with adverse 7-year long-term outcomes.

Material and methods. In male population ($n=1024$, aged 47-73 year-old) by biochemistry we assessed the values of baseline and catalyzed stimulated oxidation of peroxidized lipids products (LOP) in LDL, concentration of antioxidants in LDL (alpha-tocopherol, beta-carotene, retinol, xantines), concentration of antibodies to oxidized LDL (oxLDL). Then, during 7 years with the use of Registers we assessed endpoints: myocardial infarction, stroke, total and cardiovascular mortality.

Results. The significant associations revealed, of the baseline LDL products content ($p=0,019$, Hazard Ratio, HR=1,39) and resistance of LDL to oxidation at early stage ($p=0,048$, HR=1,18) with the stroke cases. Also, the significant relations found of beta-carotene in LDL ($p=0,034$, HR=0,98) and antibodies concentration

against oxLDL ($p=0,041$, HR=0,99) with cardiovascular mortality cases in 7 year follow-up.

Conclusion. The data represents significant pathogenetic role of atherogenic oxidation-antioxidant changes of LDL in development of cardiovascular diseases and complications.

Russ J Cardiol 2016, 12 (140): 45–48

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-12-45-48>

Key words: male population, oxidized low density lipoproteides, antioxidants, 7-year long-term results, stroke, cardiovascular mortality.

E. N. Meshalkin Novosibirsk Scientific-Research Institute of Circulation Pathology, Novosibirsk, Russia.

Одну из ключевых ролей в патогенезе атеросклероза играют окисленно-модифицированные липопротеины низкой плотности (окЛНП) [1-3]. ОкЛНП характеризуются сниженным содержанием свободных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и антиоксидантов

(альфа-токоферола, гамма-токоферола, ретинола, бета-каротина и других), повышенным содержанием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), окисленно-модифицированными апопротеинами апо-В-100 и апо-Е [2-5]. В результате описанных патологических

изменений окЛНП “не узнаются” нормальными апо-В/Е-рецепторами клеток, но активно захватываются скэвинджер-рецепторами макрофагов в субэндотелии сосудистой стенки. Повышенный эндоцитоз богатых холестерином (ХС) окЛНП макрофагами приводит к их трансформации в пенистые клетки — морфологический маркер атеросклероза [2, 3, 6]. Окислительная модификация циркулирующих в крови ЛНП менее выражена, чем таковая в субэндотелии сосудистой стенки, где активны процессы клеточного окисления ЛНП моноцитами/макрофагами, Т-лимфоцитами и пенистыми клетками, выделяющими активные кислородные метаболиты (АКМ) [6, 7].

Для оценки окислительной модификации циркулирующих в крови ЛНП используют измерение содержания в них продуктов ПОЛ. Также существует показатель для оценки “предрасположенности” ЛНП к окислению — устойчивость ЛНП к окислению *in vitro* под действием катализаторов окисления. Он интегративно отражает как проокислительную возможность ЛНП (содержание в них ПНЖК, гидроперекисей липидов и др.), так и их антиоксидантный потенциал (содержание α -токоферола и других антиоксидантов) [8-10]. Повышенный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП, их сниженная устойчивость к окислению и низкое содержание в ЛНП липофильных антиоксидантов часто выявляются у лиц с ишемической болезнью сердца (ИБС) и коронарным атеросклерозом [6-8].

В последние годы актуальным является изучение возможного влияния окислительных и антиоксидантных нарушений в крови и в ЛНП на неблагоприятное течение коронарного атеросклероза, на неблагоприятный прогноз в целом, однако данные разных исследований противоречивы [11-15]. Поэтому целью настоящего исследования было изучение связи исходных показателей потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП с неблагоприятным семилетним отдаленным прогнозом (инфаркт миокарда (ИМ), инсульт, общая и сердечно-сосудистая смертность) в популяции мужчин 47-73 лет.

Материал и методы

Обследование популяционной выборки мужчин проводилось в ходе скрининга в рамках международного проекта HAPIEE фонда Wellcome Trust (Великобритания) “Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе. Многоцентровое когортное исследование” в период 2007-2008гг. Исследование было одобрено Этическим Комитетом “НИИТПМ”, протокол № 1 от 14.03.2002г. В исследование было включено 1024 мужчины 47-73 лет (средний возраст $61,1 \pm 0,3$ лет, здесь и далее $M \pm m$) — популяционная выборка мужчин г. Новосибирска. Все обследованные заполняли форму Информированного согласия на участие в исследовании.

В программу обследования входили: демографические и социальные данные, опрос о привычке курения

и употреблении алкоголя, диетологический опрос, история хронических заболеваний, кардиологический опрос по Роуз, антропометрия, 3-х кратное измерение артериального давления (АД), спирометрия, запись ЭКГ с расшифровкой по Миннесотскому коду. В популяционной группе мужчин средний уровень АД был $145,5 \pm 0,74/90,5 \pm 0,4$ мм рт.ст., средний индекс массы тела (ИМТ) был $27,4 \pm 0,38$ кг/м².

Пробы крови для биохимических исследований забирали однократно из локтевой вены утром натощак через 12 ч после приема пищи. Биохимическими методами исследовали показатели исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛНП, концентрации в ЛНП антиоксидантов, концентрации в крови антител к окЛНП.

Определение исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛНП и концентрации в ЛНП антиоксидантов проводили собственными способами [9]. Кратко: ЛНП получали из сыворотки методом осаждения с буферным гепарином, промывали и растворяли в 1 М растворе NaCl. В ЛНП определяли концентрацию белка по методу Лоури, концентрации альфа-токоферола, ретинола, бета-каротина, ксантинов флуориметрическими методами. Окислительную модификацию ЛНП проводили в изотоническом растворе NaCl, содержащем ионы Cu^{2+} при 37° С. До окисления, после 3 и 30 мин инкубации ЛНП оценивали степень их окислительной модификации по концентрации одного из конечных продуктов ПОЛ малонового диальдегида (МДА) флуориметрическим методом на спектрофлуориметре Versafluor.

Концентрации антител к окЛНП в крови определяли с использованием ELISAs тест-систем Biomedica на полуавтоматическом ИФА анализаторе “Mul-tiscanEX”.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows (версия 10.05). Использовали методы многофакторного анализа ANOVA, логистической регрессии, в том числе пошаговой с расчетом относительного риска (отношение шансов, ОШ), Cox регрессии с расчетом относительного риска (Hazard Ratio, HR). Критерием статистической достоверности был уровень $p < 0,05$.

Отдаленные результаты в виде конечных точек (ИМ, общая смертность, сердечно-сосудистая смертность (ССС), инсульт) изучены в течение 7 лет после обследования популяции мужчин при использовании данных Регистров ИМ, инсульта, смертности, функционирующих в Новосибирске на базе “НИИТПМ”.

Результаты

Отдаленные результаты были изучены в течение 7 лет после проведения популяционного обследования мужской популяции. По данным Регистра инфаркта миокарда у 36 мужчин развился ИМ (3,5% популяционной выборки). По данным Регистра мозгового инсульта у 22 человек (2,1%) развился инсульт. По данным Реги-

Таблица 1

**Окислительно-антиоксидантные показатели ЛНП в популяции мужчин (n=1024)
в зависимости от отдаленных 7-летних неблагоприятных результатов (M±σ)**

Окислительно-антиоксидантные показатели	Инфаркт миокарда		Инсульт		Общая смертность		ССС	
	Да (n=36)	Нет (n=988)	Да (n=22)	Нет (n=1002)	Да (n=101)	Нет (n=923)	Да (n=45)	Нет (n=979)
Исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП, нМ МДА/мг белка ЛНП	2,8±2,1**	2,0±1,5	2,0±1,4	2,0±1,5	2,4±1,6**	2,0±1,5	2,6±1,6*	2,0±1,5
Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП после 3 мин окисления, нМ МДА/мг белка ЛНП	9,6±2,9*	8,2±4,0	7,5±3,6	8,2±4,0	8,5±3,4	8,2±4,0	8,4±3,6	8,2±4,1
Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП после 30 мин окисления, нМ МДА/мг белка ЛНП	19,3±5,6	17,8±6,5	17,0±4,8	17,9±6,6	17,4±5,8	17,9±6,6	16,7±6,0	17,9±6,6
Антитела к окЛНП, мЕД/мл	164,4±114,1*	321,2±323,5	252,1±157,5	320,0±324,7	265,2±255,8	323,8±327,3	196,7±149,7*	323,8±327,3
Альфа-токоферол ЛНП, мг/мг белка ЛНП	1,3±0,5	1,4±0,5	1,3±0,4	1,4±0,5	1,3±0,3	1,4±0,5	1,24±0,3	1,4±0,5
Ретинол ЛНП, мг/мг белка ЛНП	0,05±0,02	0,05±0,04	0,05±0,03	0,05±0,04	0,05±0,02	0,05±0,04	0,05±0,02	0,05±0,04
Бета-каротин ЛНП, мг/мг белка ЛНП	65,4±23,5	71,7±35,3	69,2±24,7	71,6±35,3	69,1±31,2	71,8±35,5	66,3±29,8	71,8±35,4
Ксантины ЛНП, мг/мг белка ЛНП	399,9±167,1	464,6±196,0	452,5±213,6	463,4±195,1	452,5±158,8	464,2±199,3	425,1±168,2	464,2±198,0

Примечание: * — различие между группами при $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

стра смертности общая смертность была зарегистрирована у 101 мужчины (9,9%), СССР — у 45 человек (4,4%).

Проведено сравнение окислительных и антиоксидантных показателей ЛНП между подгруппами мужчин, у которых были зарегистрированы конечные точки (инсульт, ИМ, общая смертность, СССР) в отдаленном периоде (табл. 1). У мужчин, с развившимся в отдаленном периоде наблюдения инсультом изначально исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП был в 1,4 раза выше, а резистентность ЛНП к окислению на начальном этапе окисления *in vitro* и концентрация антител к окЛНП ниже в 1,2 и 1,9 раза, соответственно. У мужчин, умерших в отдаленном периоде наблюдения (общая смертность) изначально исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП был в 1,2 раза выше в сравнении с таковым показателем у выживших мужчин. У мужчин, умерших в отдаленном периоде наблюдения по причине СССР изначально исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП был в 1,3 раза выше, а концентрация антител к окЛНП в 1,6 раза ниже, чем у выживших мужчин.

Уровень продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, МДА и др.) в свежевыделенных из крови ЛНП исследуется с целью оценки степени окислительной модификации ЛНП *in vivo* в крови, где циркулируют так называемые “минимально окисленные” ЛНП [7]. Основной процесс клеточного окисления ЛНП *in vivo* происходит в субэндотелии сосудистой стенки артерий в присутствии АКМ и высокой концентрации ионов металлов переменной валентности (Cu^{2+} и Fe^{2+}) [6, 12]. Процесс окисления выделенных ЛНП *in vitro* также вызывается ионами меди. *In vitro* создается экспериментальная копия окисления ЛНП *in vivo* и оценивается насколько быстро и значительно ЛНП способны окисляться в организме, в субэндотелии сосудистой стенки. Таким образом, показатель устойчивости ЛНП к окислению позволяет судить о “предрасположенности” ЛНП к окислению и отражает их прооксидантно-антиокси-

дантный потенциал [12, 13]. Известно, что начальная скорость окисления ЛНП зависит от содержания в них липофильных антиоксидантов, прежде всего альфа-токоферола, ретинола, бета-каротина, ксантинов, сдерживающих процессы окисления ПНЖК в ЛНП до момента полного истощения антиоксидантных возможностей ЛНП под действием АКМ [8–10].

Основная оценка отдаленных результатов была проведена с использованием логистической регрессии, в том числе пошаговой, и Сох-регрессионного анализа. Перед проведением этих анализов при многофакторной межгрупповой оценке ANOVA между зарегистрированными конечными точками и окислительно-антиоксидантными параметрами ЛНП были выявлены зависимые влияния на последние таких факторов, как возраст и систолическое АД. Чтобы нивелировать это влияние, проведение далее логистического регрессионного, в том числе пошагового, и Сох регрессионного анализов осуществлялось после стандартизации мужчин по возрасту и систолическому АД. В модели в качестве независимых переменных были включены показатели окислительных (исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП, резистентность ЛНП к окислению на начальном и развернутом этапе окисления, антитела к окЛНП) и антиоксидантных изменений ЛНП (содержание в них альфа-токоферола, ретинола, бета-каротина и ксантинов), возраст и САД, а в качестве зависимой переменной — случаи инсульта, либо ИМ, либо смерти от всех причин, либо СССР.

Сох-регрессионная модель позволяет проверить независимое влияние исследуемых переменных на риск достижения конечной точки в зависимости от времени дожития. Выявлены значимые ассоциации исходного уровня продуктов в ЛНП ($p=0,019$, $\text{HR}=1,39$) и резистентности ЛНП к окислению на начальной стадии ($p=0,048$, $\text{HR}=1,18$) со случаями инсульта. Подобные ассоциации выявлены в логистической регрессионной модели. Полу-

ченные результаты указывают, что у мужчин при повышении исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛНП на 1,0 нМ МДА/мг белка ЛНП относительный 7-летний риск развития инсульта увеличивается почти на 40%, а при снижении резистентности ЛНП к окислению на 1,0 нМ МДА/мг белка ЛНП — увеличивается на 18%. Подобных данных в мировой литературе нами не обнаружено.

Нами не было выявлено достоверной связи потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП с относительным риском развития ИМ ни в логистической регрессионной модели ни при Сох регрессионном анализе. Важно отметить, что и в мировой литературе нами не обнаружено результатов, опровергающих полученные.

Не были получены и результаты о достоверной связи окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП с относительным риском развития смерти от всех причин (общая смертность) из-за значимого влияния возрастного фактора. Полученные результаты не согласуются с данными Linna M, et al. (2013), которые исследовали влияние уровня окЛНП в крови на случаи общей смертности в течение 10 лет у пожилых лиц старше 64 лет в Финляндии. Авторы заключили, что окЛНП являются значимыми предикторами общей смертности независимо от возраста, пола, ИМТ, курения, АД [13]. Возможно, отличающиеся результаты Linna M, et al. связаны с наблюдением лиц более старшей (чем в нашем исследовании) возрастной группы, когда вклад возраста в развитие общей смертности становится менее значимым.

В Сох-регрессионной модели выявлены значимые ассоциации концентрации бета-каротина в ЛНП ($p=0,034$, $HR=0,98$) и концентрации антител к окЛНП ($p=0,041$, $HR=0,99$) со случаями ССС в 7-летней перспективе. Значимые подобные ассоциации со случаями ССС выявлены и в логистической регрессионной пошаговой модели (на 2 шаге) — для концентрации бета-каротина ($ОШ=0,98$, $p=0,012$) и для концентрации

антител к окЛНП ($ОШ=0,99$, $p=0,047$). Полученные результаты указывают, что у мужчин при повышении концентрации бета-каротина в ЛНП на 1,0 мг/мг белка ЛНП относительный 7-летний риск развития ССС снижается на 2%, а при повышении концентрации антител к окЛНП — снижается на 1%. Полученные результаты, с одной стороны, не согласуются с данными Zuliani G, et al. (2013), которые не обнаружили значимого влияния уровня окЛНП на отдаленные 9-летние результаты развития ИБС и ССС у пожилых людей [15]. С другой стороны, Karppi J, et al. показали, что низкий уровень в крови бета-каротина ассоциирован с увеличением в 2 раза риска внезапной сердечной смерти у мужчин среднего возраста в течение 17 лет наблюдения и является риском развития ИБС и смертности [12], что согласуется с результатами нашего исследования.

Заключение

Таким образом, при изучении связи исходных показателей потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП с неблагоприятным 7-летним отдаленным прогнозом в популяции мужчин 47-73 лет были получены следующие важные результаты. Во-первых, повышенный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП и сниженная резистентность ЛНП к окислению независимо ассоциированы с относительным риском развития инсульта в течение 7 лет. Во-вторых, сниженная концентрация антител к окЛНП и, особенно, сниженное содержание бета-каротина в частицах ЛНП независимо ассоциированы с относительным риском развития ССС в течение 7 лет. Полученные результаты еще раз подчеркивают важную патогенетическую роль атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений частиц ЛНП в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 14-45-00030.

Литература

- Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, et al. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int. J. Prev. Med.*, 2014; 5(8): 927-46.
- Williams KJ, Fisher EA. Oxidation, lipoproteins and atherosclerosis. *Curr. Opin. in Clin. Nutr. Care*, 2005; 8: 139-46.
- Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J. Lipid Res.*, 2009; Suppl.: S376-S381.
- Menschikova EB, Lankin VZ, Zenkov NK, et al. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. Moscow: Slovo, 2006; 560 p. Russian (Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Москва: Слово, 2006, 560 с.).
- De Rosa S, Cirillo P, Paglia A, et al. Reactive oxygen species and antioxidants in the pathophysiology of cardiovascular disease: does the actual knowledge justify a clinical approach? *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2010; 8(2): 259-75.
- Ragino Yul, Chernjacskey AM, Volkov AM, et al. Factors and mechanisms of coronary atherosclerosis. Novosibirsk: Nauka, 2011; 168 p. Russian (Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Волков А.М. и др. Факторы и механизмы развития коронарного атеросклероза. Новосибирск: Наука, 2011, 168 с.).
- Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Circulating oxidized LDL: a biomarker and a pathogenic factor. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2009; 20(5): 363-9.
- Nikitin YuP, Ragino Yul. Increased sensitivity of LDL to oxidation as a risk factor for atherosclerosis. *Russ J Cardiol.* 2002; 1: 61-70. Russian (Никитин Ю.П., Рагино Ю.И. Повышенная чувствительность липопротеинов низкой плотности к окислению как фактор риска атеросклероза. Российский кардиологический журнал. 2002; 1: 61-70).
- Ragino Yul, Voevoda MI, Dushkin MI, et al. Application of new biochemical methods to assess oxidation antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clinical laboratory diagnostic*, 2005; V. 4: 11-15. Russian (Рагино Ю.И., Воевода М.И., Душкин М.И. и др. Применение новых биохимических способов для оценки окислительно-антиоксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности. Клиническая лабораторная диагностика, 2005; 4: 11-15).
- Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. *Clin. Chim. Acta*, 2010; 411 (23-24): 1875-82.
- Hoogeveen RC, Ballantyne CM, Bang H, et al. Circulating oxidized low-density lipoprotein and intercellular adhesion molecule-1 and risk of type 2 diabetes mellitus: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetologia*, 2007; 50(1): 36-42.
- Karppi J, Laukkanen JA, Mäkilä TH, et al. Serum β -carotene and the risk of sudden cardiac death in men: a population-based follow-up study. *Atherosclerosis*, 2013; 226(1): 172-7.
- Linna M, Ahotupa M, Loppinen M, et al. Circulating oxidized LDL lipids, when proportioned to HDL-c, emerged as a risk factor of all-cause mortality in a population based survival study. *Age and Ageing*, 2013; 42: 110-3.
- Stephens JW, Khanolkar MP, Bain SC. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2009; 202(2): 321-9.
- Zuliani G, Morieri ML, Volpato S, et al. Determinants and clinical significance of plasma oxidized LDLs in older individuals. A 9 years follow-up study. *Atherosclerosis*. 2013; 226(1): 201-7.