

**ANTYOKSYDACYJNE WŁAŚCIWOŚCI
I PRZECIWMIAŹDŹYCOWE DZIAŁANIE
PARAOKSONAZY 1**

**ANTIOXIDANT AND ANTIATHEROSCLEROTIC
PROPERTIES OF PARAOXONASE 1**

**Daria Kupczyk*¹, Aleksandra Karczmarska-Wódzka*²,
Renata Studzińska³, Joanna Sikora²**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum,
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz
e-mail: dariak@cm.umk.pl

² *Katedra Farmakologii i Terapii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum,
ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: akar@cm.umk.pl

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum Bydgoszcz*

** Daria Kupczyk i Aleksandra Karczmarska-Wódzka w jednakowym stopniu
przyczyniły się do niniejszego opracowania i powinny być uważane
za pierwszych autorów*

Abstract

Wprowadzenie

1. Równowaga oksydacyjno-redukcyjna
2. Przeciwmiażdżycowe działanie paraoksonazy 1
3. Rola paraoksonazy 1 w organizmie człowieka

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Dr Daria Kupczyk, asystent Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad problematyką stresu oksydacyjnego w patofizjologii wybranych jednostek chorobowych.

Dr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka, adiunkt w Pracowni Biotechnologii Katedry Farmakologii i Terapii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania w obrębie oceny funkcji płytek krwi i stresu oksydacyjnego w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

Dr Renata Studzińska, pracownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki związane są z badaniami nad syntezą zmodyfikowanych analogów nukleozydów pirymidynowych.

Dr Joanna Sikora, Kierownik Pracowni Biotechnologii w Katedrze Farmakologii i Terapii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad hemostazą i układem krzepnięcia w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

ABSTRACT

This overview will discuss the Paraoxonase 1 (PON1) in arteriosclerosis diseases. Atherosclerosis is one of lifestyle diseases and affects greater number of people. Ischemic heart disease, acute coronary syndromes or stroke are the clinical symptoms of atherosclerosis and are the most common cause of morbidity especially in middle and old age people. In atherosclerosis, in the space between the endothelium and the muscular layer in the wall of a blood vessel, accumulates deposits consisting of macrophages, lipoprotein, low density foam cells and extracellular concentrations of cholesterol. In this way fatty streaks are formed which are early stage atherosclerotic lesions. With the passage of time they are joined by elements of fibrous connective tissue that undergo hypertrophy. They begin to surround primarily created the fireplace of inflammation and separate them from the rest of the blood vessel [1].

Further research if needed to better understanding the mechanisms related to atherosclerosis development and plaque instability because it may have important clinical implications for the identification of high-risk patients. The present review tries to summarize the current knowledge on the role of PON1 in the formation of atherosclerotic plaque is the goal of current research [2].

Keywords: paraoxonase 1, oxidative stress, atherosclerosis

Słowa kluczowe: paraoksonaza 1, stres oksydacyjny, miażdżycyca

WPROWADZENIE

Miażdżyca tętnic jest obecnie jedną z chorób cywilizacyjnych i dotyka coraz większą liczbę osób. Prowadzi ona do znacznych komplikacji. Choroba wieńcowa, zawał czy udar należą do klinicznych objawów procesu miażdżycowego i stanowią najczęstszą przyczynę zachorowalności i śmiertelności w krajach cywilizacji zachodniej, zwłaszcza u osób w średnim i starszym wieku. W miażdżycy, w przestrzeni pomiędzy śródbłonkiem i warstwą mięśniową naczynia, dochodzi do gromadzenia złogów składających się z makrofagów, lipoprotein o małej gęstości, komórek piankowatych oraz pozakomórkowych skupisk cholesterolu. W ten sposób powstają pasma tłuszczowe, będące wczesną postacią zmian miażdżycowych. Z upływem czasu dołączają do nich elementy włókniste tkanki łącznej, które ulegają przerostowi. Zaczynają one otaczać pierwotne ognisko zapalne i oddzielają je od reszty naczynia. Tak zaawansowana zmiana jest określana terminem „blaszka miażdżycowa” (Schemat 1).



Schemat 1. Rozwój blaszki miażdżycowej
Scheme 1. Atherosclerosis plaque formation

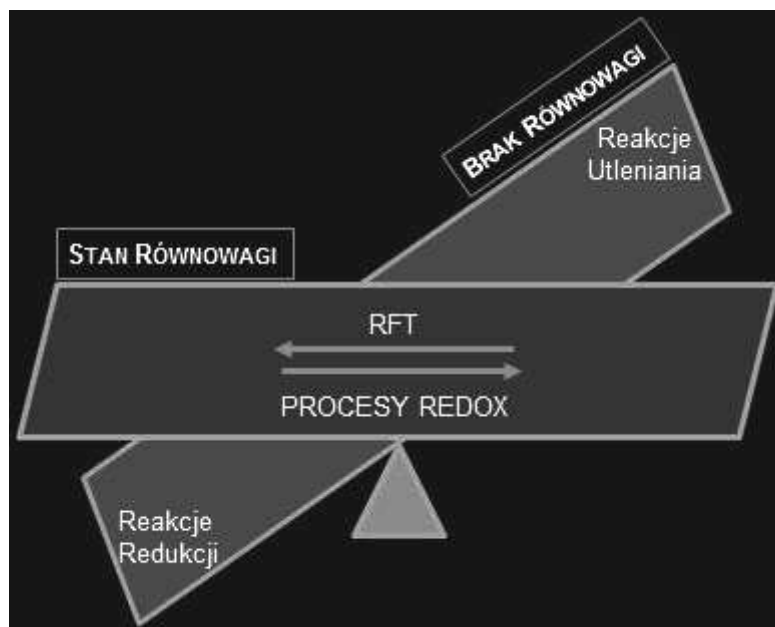
Dlatego ważne jest rozpoznanie wszystkich czynników wpływających na rozwój tej choroby w celu ustalenia możliwie najszybszej diagnostyki oraz wdrożenia odpowiedniej terapii w chorobach układu sercowo-naczyniowego [1]. Udowodniona zależność pomiędzy stężeniem reaktywnych form tlenu (RFT) a aktywnością paraoksonazy 1 (PON1) oraz wykazanie roli tego enzymu w powstawaniu blaszki miażdżycowej jest przedmiotem badań w ostatnich latach. [2].

1. RÓWNOWAGA OKSYDACYJNO-REDUKCYJNA

Analizując mechanizm powstawania miażdżycy oraz działanie PON1 dochodzimy do wniosku, że obniżenie stężenia PON1 wiąże się ściśle ze zwiększonym ryzykiem szybkiego rozwoju miażdżycy, a w konsekwencji może doprowadzić do wystąpienia zawału serca czy innych incydentów kardiologicznych.

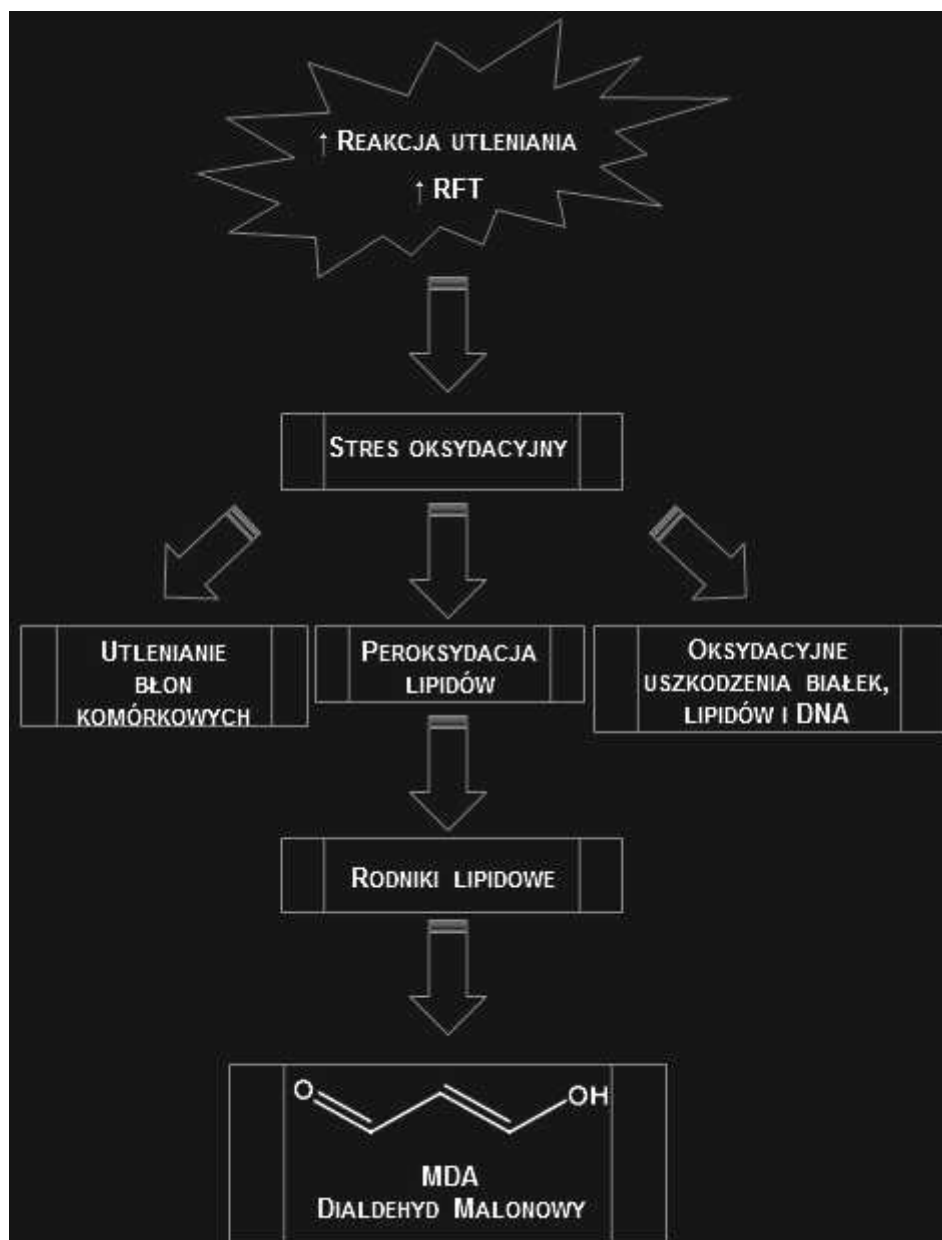
Równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna zapewnia prawidłową homeostazę organizmu (Schemat 2). Wówczas szybkość oraz ilość powstających reaktywnych form tlenu pozostaje w równowadze z ich usuwaniem czy neutralizowaniem przez

systemy i mechanizmy antyoksydacyjne. Jednak zaburzenie tej równowagi skutkuje nadprodukcją reaktywnych form tlenu, przewagą reakcji utleniania i rozwojem stanu określanego mianem stresu oksydacyjnego [3].



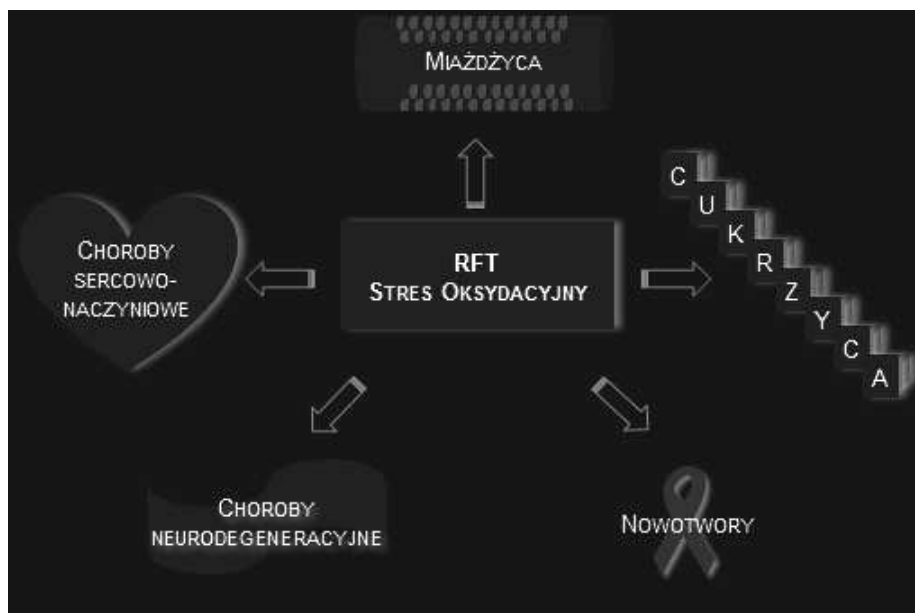
Schemat 2. Równowaga redox
Scheme 2. Redox equilibrium

Skutkiem działania stresu oksydacyjnego jest utlenianie błon komórkowych, zmiana struktury i funkcji białek oraz uszkodzenie DNA [4]. W wyniku stresu oksydacyjnego dochodzi także do peroksydacji lipidów. Jest to proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, które wchodzi w skład fosfolipidów, co w konsekwencji prowadzi do powstania nadtlenków tych związków. Głównym produktem peroksydacji lipidów jest dialdehyd malonowy (ang. malondialdehyde, MDA) (Schemat 3). W warunkach zwiększonego wytwarzania RFT stężenie tego związku wzrasta, powodując zmianę przepuszczalności błony komórkowej [5].



Schemat 3. Skutki działania stresu oksydacyjnego
Scheme 3. Effects of oxidative stress

Działanie RFT oraz przewlekły stres oksydacyjny mogą być przyczyną rozwoju nie tylko miażdżycy, ale także m.in. chorób układu krążenia, cukrzycy, chorób neurodegeneracyjnych czy nowotworowych (Schemat 4) [6].



Schemat 4. RFT - przykłady jednostek chorobowych
 Scheme 4. ROS - the common diseases

2. PRZECIWMIAŻDŻYCOWE DZIAŁANIE PARAOKSONAZY 1

Kluczową rolę w patogenezie chorób układu krążenia odgrywa proces miażdżycowy, a jednym z najważniejszych mechanizmów odpowiedzialnych za jego rozwój jest oksydacyjna przemiana lipoprotein. W wyniku tego procesu dochodzi do powstawania nadtlenków lipidów. Następnie w procesie fagocytozy utlenionych cząsteczek lipoprotein powstają komórki piankowe, prowadząc do rozwoju zmian miażdżycowych [7]. Zgodnie z oksydacyjną teorią miażdżycy zakłada się, że modyfikacje lipoprotein o małej gęstości, zwłaszcza LDL (ang. *low-density lipoproteins*), istotnie wpływają na proces aterosogenezy [8]. LDL powstają w krążeniu z lipoprotein o bardzo małej gęstości – VLDL (ang. *very low-density lipoproteins*) a ich głównym zadaniem jest dostarczanie cholesterolu do komórek. W wyniku utleniania LDL dochodzi do powstawania różnorodnych fragmentów lipidowych oraz białkowych lipoprotein. Powstałe w ten sposób produkty peroksydacji lipidów mogą tworzyć związki typu zasady Schiffa i modyfikować cząsteczki lipoprotein. W sytuacji, kiedy nie będą one rozpoznawane przez receptor dla LDL, jakim jest apolipoproteina B/E (apoB/E), będzie dochodziło do ciągłego napływu cząsteczek lipoprotein obciążonych lipidami do ściany naczyń. W warunkach prawidłowych apoB/E podlega regulacji na zasadzie „sprężenia zwrotnego”. Kiedy nie jest on rozpoznawany dochodzi do uruchomienia szlaku „scavenger receptor” i wówczas produkty peroksydacji lipidów modyfikują białkową część LDL

– apolipoproteinę B-100 (apoB-100) w wyniku czego w pierwszym etapie tego procesu dochodzi do powstania utlenionych cząsteczek LDL- oxLDL (ang. *oxidized low-density lipoproteins*). Do produktów peroksydacji lipidów należą dialdehyd malonowy czy 4-hydroksynonenal, które reagują z grupami aminowymi apoB-100 obecnymi w cząsteczkach LDL, prowadząc do powstania wspomnianych wcześniej zasad Schiffa. W kolejnym etapie monocyty ulegają przekształceniu w makrofagi, które po pochłonięciu ogromnych ilości lipidów zamieniane są w komórki piankowate [9]. W ten sposób zostaje zapoczątkowana kaskada procesów prowadzących do powstania blaszki miażdżycowej. Ponadto powstałe komórki piankowate przyczyniają się do aktywacji oksydazy NADPH i nasilenia stresu oksydacyjnego [10]. Natomiast oksydaza NADPH katalizuje przeniesienie elektronów z NADPH na tlen, co prowadzi do powstania anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru. Dodatkowo przyczyną nasilenia stresu oksydacyjnego w miażdżycy jest duża koncentracja komórek o charakterze zapalnym.

W zapobieganiu uszkodzeniom wolnorodnikowym ważną rolę pełnią enzymy antyoksydacyjne. Wśród najważniejszych układów antyoksydacyjnych wymieniane są: dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), katalaza (CAT), reduktaza (GR), peroksydazy (GPx) i S-transferazy glutationowe (GST). Tworzą one spójny system ochrony antyoksydacyjnej organizmu. Biologiczna rola SOD polega na katalizowaniu reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego, natomiast GPx bierze udział w redukcji nadtlenu wodoru. Z kolei GR pełni funkcje pomocnicze w stosunku do podstawowych elementów bariery ochronnej. Poprzez redukcję utlenionego glutationu (GSSG) przywraca mu właściwości antyoksydacyjne oraz umożliwia jego ponowny udział w reakcjach, które są katalizowane przez GPx i GST. Biologiczna rola tego ostatniego polega na uczestniczeniu w drugiej fazie detoksykacji ksenobiotyków [11].

Wskazuje się także na udział enzymów, które nie są bezpośrednio zaangażowane w procesy unieszkodliwiania wolnych rodników, ale mogą być pomocne w utrzymywaniu równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu a ich unieczynnianiem.

Obecnie podkreśla się coraz większą rolę enzymu- paraoksonazy w organizmie człowieka. Występuje on w trzech izoformach: PON1, PON2 i PON3 [12]. U ludzi są one zlokalizowane obok siebie na chromosomie 7. Geny PON wykazują strukturalną homologię. Różnice w aktywności enzymatycznej oraz lokalizacji w organizmie powodują, że te trzy paraoksonazy pełnią różne funkcje [13]. PON2 jest zlokalizowana w monocytach. PON3, podobnie jak PON1 występuje w strukturze HDL, ale cechuje się niewielką aktywnością. Ostatecznie to sprawia, że najlepiej poznanym dotychczas izoenzymem jest PON1.

W latach 90. po raz pierwszy opisano, że paraoksonaza 1 (PON1) jest enzymem o właściwościach antyoksydacyjnych [14]. Wysłano wówczas hipotezę, że może być ona odpowiedzialna za ochronę i ograniczenie procesów utleniania LDL, co ma kluczowe znaczenie w patogenezie miażdżycy [1].

Obecnie wiadomo, że PON1 jest glikoproteiną o masie 43–47 kDa, utworzoną z 354 cząsteczek aminokwasów, z których podczas sekrecji i dojrzewania usuwana jest *N*-terminalna metionina, a pozostawiona sekwencja sygnałowa jest niezbędna do związania się paraoksonazy 1 z cząstką HDL [15]. W budowie paraoksonazy 1 wyróżnia się 6 walcowatych struktur β -śmigłowych, zaś każdy walec składa się z czterech pasm, które są wzmocnione mostkiem disiarczkowym. W centrum PON1 znajdują się dwa jony wapnia, z których jeden posiada rolę stabilizującą, drugi zaś pełni funkcję jonu katalitycznego [16]. Aktywność PON1 jest uzależniona od polimorfizmu jej genu [12]. Uznaje się, że polimorfizm genu paraoksonazy jest niezależnym czynnikiem miażdżycy. Obecność glutaminy w pozycji 191, tzw. allel Q, zapewnia skuteczną ochronę cząsteczkom cholesterolu LDL przed utlenieniem. Tym samym zapewnia funkcję protekcyjną w rozwoju miażdżycy. Dowiedziono, że genotyp PON1 192QQ ma udział w zapobieganiu zmian miażdżycowych. Jest to związane ze znacznym potencjałem hydrolizy utlenionych fosfolipidów. Z kolei obecność w pozycji 191 argininy, tzw. allel R, zwiększa ryzyko rozwoju choroby niedokrwiennej serca i warunkuje słabą detoksyfikację wodoronadtlenków fosfolipidowych [17, 18].

3. ROLA PARAOKSONAZY 1 W ORGANIZMIE CZŁOWIEKA

Paraoksonaza 1 pełni ważną rolę fizjologiczną w organizmie. Bierze udział w hydrolizie tlenowych pochodnych insektycydów fosforoorganicznych, wykazując aktywność paraoksonazową, a także wiązań estrowych w nadtlenkach fosfolipidowych i wodoronadtlenkach estrów cholesterolu. Ponadto rozkłada nadtlenki wodoru, działając wówczas jak peroksydaza [19]. Chroni także białka krwi przed uszkodzeniami jakie powoduje stres oksydacyjny. Paraoksonaza 1 hydrolizuje także estry aromatycznych kwasów karboksylowych, wykazując aktywność aryloesterazową, cykliczne węglany czy karbaminiany [20].

Obecnie wskazuje się na jej działanie kardioprotekcyjne z uwagi na zdolność do hydrolizy utlenionych lipidów [2, 14, 21, 22]. Właściwości ochronne paraoksonazy 1 zależą od zdolności do hydrolizy utlenionych fosfolipidów i/lub wodorotlenków linoleinianu cholesterolu, które są obecne w oxLDL. W ten sposób paraoksonaza 1 pośrednio hamuje procesy miażdżycorodnego działania oxLDL [2, 21]. PON1 działa ochronnie na błony erytrocytów. Prawdopodobnie hydrolizuje nadtlenki lipidowe do mało reaktywnych alkoholi i kwasu karboksylowego i w ten sposób zapobiega tworzeniu się toksycznych aldehydów [22–24]. Na podstawie przeprowadzonych badań wnioskuje się, że jej niska aktywność w surowicy sprzyja generowaniu reaktywnych form tlenu [23, 25]. Obniżoną aktywność PON1 obserwowano m.in. u palaczy tytoniu, u pacjentów z rodzinną hipercholesterolemią, cukrzycą typu 1 i 2, chorobami sercowo-naczyniowymi czy schorzeniami wątroby i nerek [20, 26]. PON1 jest syntetyzowana przede wszystkim w wątrobie, gdzie ulega sekrecji. Następnie przedostaje się do surowicy i ulega związaniu z HDL (ang.

high-density lipoproteins) za pomocą hydrofobowego końca –N [27]. Lipoproteiny HDL stanowią nośnik dla PON1, która bierze udział w hydrolizie produktów peroksydacji lipidów oraz zapobiega oksydacji cząsteczek LDL. Paraoksonaza 1 umożliwia cząsteczkom HDL zwrotny transport cholesterolu, zapobiegając powstawaniu oxLDL. Przypuszcza się, że duże cząstki HDL charakteryzują się większym działaniem antyaterogennym. Ale to małe cząstki HDL mogą przyjąć większe ilości cholesterolu i wykazują większe działanie antyoksydacyjne. Dodatkowo, w przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że aktywność PON1 jest większa na mniejszych cząstkach HDL, co zwiększa ich właściwości antyoksydacyjne [16]. W stanach patologii PON1 ulega przeniesieniu z HDL do surowicy ubogiej w lipoproteiny. Postuluje się, że wykazuje ona wówczas słabsze właściwości antyaterogenne. Wykazano, że cząstki HDL pozbawione paraoksonazy 1, czy to w sposób naturalny czy też w wyniku „nokautu genu”, nie są zdolne do hamowania oksydacji cząstek LDL [28]. Natomiast przywrócenie cząstkom HDL paraoksonazy 1 powoduje, że ponownie wykazują one zdolność do ochrony LDL przed procesami utleniania. Na tej podstawie sugeruje się, że aktywność PON1 może być silniej związana z chorobą niedokrwienną serca niż sam polimorfizm tego enzymu. Ochronne działanie PON1 uwarunkowane jest obecnością cysteiny w pozycji 284.

oxLDL biorą udział w tworzeniu komórek piankowatych, destabilizują blaszkę miażdżycową, wykazują działanie prokoagulacyjne i cytotoksyczne, zwiększają ekspresję cząstek adhezyjnych w komórkach śródbłonna [29–31]. Dlatego też wskazuje się na dużą rolę PON1 w hamowaniu ich powstawania. W czasie tworzenia i kumulacji oxLDL paraoksonaza 1 ulega inaktywacji. Jest to spowodowane zmniejszeniem liczby wolnych grup sulfhydrylowych cysteiny, będącej w pozycji 284 oraz wypieraniem jonów wapnia przez jony miedzi. Inaktywację PON1 przyspieszają także wolne rodniki, głównie nadtlenek wodoru, który jest główną reaktywną formą tlenu powstającą podczas stresu oksydacyjnego na skutek zmian o charakterze miażdżycowym [22]. Inaktywacja PON1 powoduje, że traci ona zdolność do hydrolizowania tiolaktonu homocysteiny, będącego potencjalnym czynnikiem miażdżycorodnym. Tiolakton homocysteiny jest pochodną homocysteiny, która stanowi niezależny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Modyfikuje on frakcję HDL i w ten sposób pozbawia ją aktywności antyoksydacyjnej przez tiolację paraoksonazy. Oprócz tego pobudza proces oksydacji LDL, czyniąc te cząsteczki bardziej przyswajalnymi przez monocyty i makrofagi [32, 33]. Warto dodać, że homocysteinylacja reszt lizynowych białek może prowadzić do ich inaktywacji, ale także do zwiększenia agregacji cząstek LDL i wzmożonej aktywacji makrofagów [34].

UWAGI KOŃCOWE

Enzymy antyoksydacyjne zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio biorą udział w reakcjach wolnorodnikowych, tworząc zintegrowany system obrony organizmu

[35]. Oznaczanie ich aktywności może dostarczać wielu cennych informacji o stanie bariery antyoksydacyjnej organizmu. Może być również wykorzystywane zarówno w celach diagnostyczno-rokowniczych, jak i profilaktycznych. Pomimo, iż paraoksonazy nie unieszkodliwiają bezpośrednio reaktywnych form tlenu, to jednak ocena ich aktywności oraz badanie polimorfizmów genetycznych może stanowić ważne źródło informacji na temat zagrożenia rozwojem chorób, u podłoża których leżą wolne rodniki i stres oksydacyjny, w tym miażdżycy. Może to okazać się niezwykle przydatne w szacowaniu ryzyka ww. jednostki chorobowej.

Aktywność oraz stężenie paraksonazy 1 u ludzi charakteryzuje się dużą zmiennością. Niemniej ocena ilości tego enzymu w surowicy może okazać się ważna w szacowaniu indywidualnego ryzyka rozwoju choroby niedokrwiennej serca. Aktywność PON1 może być także modyfikowana, niezależnie od genotypu, przez takie czynniki jak styl życia, dieta czy choroby.

Jak wspomniano wcześniej, PON1 chroni cząstki LDL i HDL przed oksydacją. Ponadto niszczy utlenione lipidy w lipoproteinach i naczyniach krwionośnych, a tym samym opóźnia rozwój miażdżycy. Shih i współautorzy [36] w swoich badaniach opisali ochronne działanie paraoksonazy 1 w stosunku do miażdżycy. Badaniu poddano myszy karmione dietą aterogenną, które były podatne na rozwój miażdżycy i wykazano zmniejszenie i wykazano zmniejszenie aktywności PON1 o 52% u myszy, które były podatne na rozwój miażdżycy. Odnotowano także pozytywną korelację poziomu wątrobowego mRNA PON1 ze stopniem rozwoju blaszek miażdżycowych. Natomiast po iniekcji oxLDL do krążenia myszy podatnych na miażdżycę zaobserwowano zmniejszenie aktywności PON1 o 59%.

Dotychczas przeprowadzone badania nad paraoksonazą 1 wskazują na jej działanie przeciwmiażdżycowe. Wykazano, że niska aktywność tego enzymu jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju choroby niedokrwiennej serca. Pozwala także lepiej ocenić zagrożenie rozwojem tej choroby niż jej genotyp. Natomiast wyższa aktywność PON1 stanowi ochronę dla cząstek LDL przed procesami utleniania, opóźniając w ten sposób rozwój miażdżycy.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Otocka-Kmiecik, M. Orłowska-Majdak, *Post. Hig. Med. Dosw.*, 2009, **63**, 668.
- [2] L.G. Costa, T.B. Cole, C.E. Furlong, *Acta Biomed. Atenei Parmens*, 2005, **76** (supl. 2), 50.
- [3] M. Knapik-Kordecka, A. Piwowar, M. Warwas, *Wiad. Lek.*, 2007, **60** (7-8), 329.
- [4] A. Łuszczewski, E. Matyska-Piekarska, J. Trefler, I. Wawer, J. Łącki, P. Śliwińska-Stańczyk, *Reumatologia*, 2007, **45** (5), 284.
- [5] J. Kulbacka, J. Sączko, A. Chwiłkowska, *Pol. Merk. Lek.*, 2009, **27** (157), 44.
- [6] O. Kalisz, T. Wolski, M. Gerkowicz, M. Smorawski, *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio DD: Medicina Veterinaria*, 2007, **62** (1), 87.
- [7] E. Zawadzka-Bartczak, L. Kopka, R. Wójcik: *Przegl. Med. Lotniczej*, 2001, **3** (7), 235.
- [8] G.M. Chisolm, D. Steinberg D, *Free Radic. Biol. Med.*, 2000, **28** (12), 1815.
- [9] K. Strzyżewski, M. Pioruńska-Stolzman, W. Majewski, *Nowiny Lekarskie*, 2008, **77** (1), 8.

- [10] P. Libby, M. DiCarli, R. Weissleder, *J. Nucl. Med.*, 2010, **51** (Suppl. 1), 33.
- [11] T. Wielkoszyński, M. Zawadzki, A. Lebek-Ordon, I. Szlacheta-Korzonek, *Diagn. Lab.*, 2007, **43**, 283.
- [12] P. Gajewski, M. Tomaniak, K.J. Filipiak, *Folia Cardiologica*, 2015, **10** (3), 183.
- [13] A. Banszewska, A. Baszczuk, Z. Kopczyński, A. Banaszewska, A. Baszczuk, Z. Kopczyński, A. Thielemann, P. Kopczyński, *Postępy biologii komórki*, 2014, **41** (3), 429.
- [14] M.I. Mackness, S. Arrol, P.N. Durrington, *FEBS Lett.*, 1991, **286**, 152.
- [15] K.N. Gan, A. Smolen, H.W. Eckerson, B.N. La Du, *Drug. Metab. Dispos.*, 1991, **19**, 100.
- [16] Z. Senderowska, J. Sein Anand, I. Rybakowska, *Ann. Acad. Med. Gedan.*, 2015, **45**, 71.
- [17] A. Wojtczak, J. Skretowicz, *Pol. Merk. Lek.*, 2007, **23** (133), 5.
- [18] H.H. Witttrup, A. Tyjoberk-Hansen, S. Abildgaard, R. Steffensen, P. Schnohr, B.G. Nordestgaard, *J. Clin. Invest.*, 1997, **99**, 1606.
- [19] J. Zielaskowska, D. Olszewska-Słonina, *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006, **15**, 1073.
- [20] Z. Suchocka, *Czynniki Ryzyka*, 2006, **2** (48), 11.
- [21] O. Rozenberg, M. Rosenblat, R. Coleman, D.M. Shih, M. Aviram, *Free Radic. Biol. Med.*, 2003, **34**, 774.
- [22] M. Aviram, S. Billecke, R. Sorenson, Ch. Bisgaier, R. Newton, M. Rosenblat, J. Erogul, C. Hsu, C. Dunlop, B. La Du, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998, **18**, 1617.
- [23] M. Aviram, M. Rosenblat, C.L. Bisgaier, R.S. Newton, S.L. Primo-Parmo, B.N. La Du, *J. Clin. Invest.*, 1998, **101**, 1581.
- [24] B. Mackness, M.I. Mackness, S. Arrol, W. Turkie, K. Julier, B. Abuasha, J.E. Miller, A.J. Boulton, P.N. Durrington, *Atherosclerosis*, 1998, **139**, 341.
- [25] M. Aviram, M. Rosenblat, S. Billecke, J. Erogul, R. Sorenson, C.L. Bisgaier, *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26**, 892.
- [26] M.I. Mackness, D. Harty, D. Bhatnager, P.H. Winocour, S. Arrol, M. Ishola, P.N. Durrington, *Atherosclerosis*, 1991, **86**, 193.
- [27] A. Gugliucci, T. Menin, *Clin. Chim. Acta*, 2015, **439**, 5.
- [28] D.M. Shih, L. Gu, Y.R. Xia, M. Navab, W.F. Li, S. Hama, L.W. Castellani, C.E. Furlong, L.G. Costa, A.M. Fogelman, A.J. Lusis, *Nature*, 1998, **394**, 284.
- [29] P.N. Durrington, B. Mackness, M.I. Mackness, *Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, **21**, 473.
- [30] D.K., Sanghera, N. Saha, M.I. Kamboh, *Atherosclerosis*, 1998, **136**, 217.
- [31] B.N. La Du, S. Billecke, C. Hsu, R.W. Haley, C.A. Broomfield, *Drug Metab. Dispos.*, 2001, **29**, 566.
- [32] B. Mackness, D.K. Davies, W. Turkie, E. Lee, D.H. Roberts, E. Hill, C. Roberts, P.N. Durrington, M.I. Mackness, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, **21**, 1451.
- [33] S.D. Nguyen, D.E. Sok, *Free Radic. Res.*, 2004, **38**, 969.
- [34] A. Baszczuk, Z. Kopczyński, A. Thelemann, *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2014, **68**, 91.
- [35] H. Sies, *Eur. J. Biochem.*, 1993, **215**, 213.
- [36] D.M. Shih, L. Gu, S. Hama, Y.R. Xia, M. Navab, A.M. Fogelman, A.J. Lusis, *J. Clin. Invest.*, 1996, **97**, 1630.