

低密度脂蛋白在肺动脉高压中作用的研究进展

轩 冉

青海大学附属医院 青海西宁 810000

摘要: 肺动脉高压 (Pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一类以肺小动脉重构为主要病变的慢性进展性恶性疾病, 表现为肺血管阻力增加、肺动脉压力升高, 最终导致右心衰竭和死亡。有研究观察到 PAH 患者血浆中 Ox-LDL/LDL 比值增加, 同时研究者评估了肺 Ox-LDL 免疫标记信号强弱, 发现 PAH 肺血管周围区域和巨噬细胞中 Ox-LDL 总体增加。LDL 为人所熟知的主要作用是将胆固醇从血液运送到外周组织, 通过与低密度脂蛋白受体 (Low density lipoprotein receptor, LDLR) 结合, 将胆固醇从血液中清除, 这叫作胆固醇的逆向运输。除此之外, 还发现 LDL 具有以下这些功能, 包括促炎、导致血栓形成、引起氧化应激等。了解这些特殊作用, 有助于更好研究低密度脂蛋白与肺动脉高压的发生、发展关系以及它如何影响疾病预后。该文回顾该领域的相关文献, 对低密度脂蛋白在肺动脉高压发生发展中的作用进行综述, 以期对 PAH 的治疗和预后提供新思路。

关键词: 肺动脉高压; 低密度脂蛋白; LDL; LDL 亚类; Ox-LDL; LDLR; 预后; 危险因素

背景介绍

肺动脉高压 (Pulmonary hypertension, PH) 本身不是一种诊断, 而仅仅是一种以静息平均肺动脉压 (Mean pulmonary artery pressure, mPAP) ≥ 25 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa) 为特征的血流动力学状态。^[1] 肺动脉高压最主要的病理生理特征是肺血管重构, 内皮细胞功能障碍在疾病的发病机制中是关键。内皮细胞功能障碍能够通过促进血管收缩、平滑肌增殖以及炎症反应激活等一系列级联反应, 引起肺血管结构和功能异常。可导致血管重塑、闭塞、肺血管阻力增加、心力衰竭和死亡。在过去, PAH 的发生率被低估, 尤其是在高危人群中。25%~60% 的 PAH 患者在诊断后 5 年死亡。^[2]

Grzegorz Kopeć 等人对比 46 例男性 PAH 患者和 94 例女性 PAH 患者, 分别与 1168 例男性和 1245 例女性的代表性样本进行匹配。使用 COX 回归模型评估 LDL-C 与死亡率之间的相关性。得出结论, PAH 患者的 LDL-C 水平较低, 与死亡风险增加相关。在 PAH 患者中, LDL 的水平降低。因此, LDL 已被建议作为预测和评估 PAH 的标志物。^[3] 一项研究已经观察到 PAH 患者血浆 Ox-LDL/LDL 比值增加, 同时研究者评估了肺的 Ox-LDL 免疫标记, 发现 PAH 肺血管周围区域和巨噬细胞中 Ox-LDL 总体增加。^[4] 由此看来, LDL 及其亚类与肺动脉高压联系密切, 或可认为是 PAH 发生发展的致病因素。LDL 和 PAH 的内在联系及机制需要进一步探索。本综述期冀总

结现有证据并对下列内容进行分析: (1) LDL 的概述; (2) LDL 和 PAH; (3) 小结与展望。本综述意于探讨 LDL 与 PAH 的关系, 以及在 PAH 发生发展和预后中所起的作用, 以期对 PAH 的治疗和预后提供新思路。

一、LDL 的概述

(一) LDL 的结构

LDL (low density lipoprotein, LDL) 作为血清脂蛋白的重要组成部分。大小为 18~25 nm, 约占血浆中总脂蛋白质量的 50%。^[5] 在 1950 年, 由 Oncley 等人首次发现。^[6] LDL 是由中性脂质 (主要是胆固醇酯) 的核心组成的微乳液颗粒, 表面覆盖着由磷脂、未酯化的胆固醇和蛋白质组成的表面层。^[7] LDL 是胆固醇向外周细胞运输的主要载体, 主要负责把胆固醇从肝脏运送到全身外周组织细胞, 是血液中胆固醇的主要载体蛋白, 主要通过其外周蛋白 ApoB-100 和脂类形成的配体结构被靶细胞低密度脂蛋白受体 (Low density lipoprotein receptor, LDLR) 识别、利用。^{[8][9]}

低密度脂蛋白并非简单实体, 它由一个异质的大分子谱组成, 可以用密度梯度离心法或梯度凝胶电泳法进行分离。基于大小和电荷差异, 血浆中的 LDL 通过离子交换色谱法被分离成至少两部分。^[10] LDL 亚组分在大小、密度和组成方面具有高度异质性。^[11] 在某些代谢紊乱普遍存在的情况下, 可以得出结论——LDL 的某些有害作

用与小而致密的LDL (sd-LDL) 相关, 这与其特性有关, 更容易渗透到动脉壁中、与LDL受体亲和力降低、更易氧化以及在代谢性疾病受试者中的高患病率。^[12]

(二) LDL受体及其功能

低密度脂蛋白受体 (LDLR) 是一种膜蛋白, 在细胞外环境中与LDL结合, 促进细胞摄取LDL作为胆固醇的来源。当细胞通过LDL受体途径从LDL获得胆固醇时, 细胞中发生一系列代谢事件以调节胆固醇稳态, 如果细胞的胆固醇需要通过LDL摄取得到满足, 内源性胆固醇合成就会受到抑制, 这能够通过胆固醇生物合成中的主要限速酶3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A (HMG CoA) 还原酶的活性降低来反映。在体内, LDL受体有两个重要功能: 第一, 为细胞提供胆固醇; 第二, 从血液中清除富含胆固醇的脂蛋白颗粒, 以防止它们在循环中积聚。^[13]

40多年来, 血浆胆固醇升高与动脉疾病的发生率增加有关。近年来, 与LDL-C水平升高的相关性更明显。许多报告表明, 降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 具有显著的心血管益处, 既可以减少事件, 也可以在不同程度上减少动脉粥样硬化病变。LDL和HDL在体内胆固醇调节中具有相反的作用, 理论上, 减少LDL沉积可以改善血管疾病。^[14]

(三) LDL的代谢与功能

LDL是众所周知的富含胆固醇的脂蛋白, 现在被广泛认为是心血管疾病 (CVD) 和代谢紊乱的主要危险因素。^[15]在正常人血浆中, LDL运输约70%的胆固醇, 并在动脉粥样硬化的发病机理中起主要作用。低密度脂蛋白分解是一个复杂的过程, 至少有两种机制参与其中: 吸收性内吞, 这是由低密度脂蛋白与可饱和受体的高亲和力结合所介导; 以及非特异性的、批量性的针吞作用。^[16]

LDLR是一种膜镶嵌式蛋白质, 该受体介导和调控LDL的胞吞作用, 是摄取和清除LDL的关键受体, 该受体广泛分布于多种细胞和组织中, 在肝脏中的表达尤为丰富。在正常条件下, 当来自LDL的ApoB-100结合LDLR并形成包埋在包被网格蛋白的凹坑和囊泡中的复合物时, 受体介导的LDL吸收性内吞就此发生。同时, LDLR是维持哺乳动物体内脂代谢稳态的关键受体。^[17]LDL主要作用是将胆固醇从血液运送到外周组织, 并最终通过与外周组织细胞中表达的LDLR结合从血液中清除, 这一过程被称为胆固醇逆向运输。^[5]我们还发现LDL具有促进炎症发生、包括促炎、导致血栓形成、引起氧化应激等生理学功能。这些功能可能与PAH的发

生、发展密切相关, 甚至能够为疾病治疗提供研究方向。

二、LDL与肺动脉高压

(一) LDL及其亚类和炎症的关系

长期以来, 研究者们一直认为炎症是PAH发病过程中的继发事件, 因为增殖的肺血管细胞可分泌炎症介质。然而, 新出现的证据表明, 炎症实际上可能在PAH的发生中发挥因果作用, 且炎症过程与血管和炎性细胞代谢改变密不可分。在PAH患者中可检测到高水平的细胞因子、趋化因子和炎症介质, 并与临床结局息息相关。炎症细胞在肺血管周围聚集, 导致过度浸润, 释放多种炎症介质以及趋化因子, 造成血管周围炎症。^[18, 19]在野百合碱 (MCT) 诱导的PAH模型中, 研究者发现, 抑制炎症反应可保护内皮细胞、缓解并逆转肺血管及心室重构, 并改善右心功能。脂质和脂蛋白可调节炎症标志物。胆固醇可结合并中和感染因子的内毒素和脂多糖成分, 下调炎症状态, 这与PAH的进展有关。^[20]综合以上, 我们可以得知炎症激活会导致肺血管周围炎症, 使肺小动脉压力升高, 进而引起PAH。探讨低密度脂蛋白与炎症之间的关系非常有必要。

一些研究表明, 低密度脂蛋白的颗粒成分触发了血管炎症。作为LDL的组成部分, 脂质过氧化产物, 特别是氧化的磷脂, 具有潜在的促炎作用。^[10]氧化低密度脂蛋白 (Ox-LDL)、修饰低密度脂蛋白 (LDLs) 等同样被认为可以调节细胞的激活和炎症功能。Ox-LDL在生理上已被定义为LDL的亚群。^[21]功能障碍的内皮细胞对血液中LDL的通透性显著增加。通过一种损伤相关分子模式 (DAMP), 被吸收的LDL转化为Ox-LDL, 触发炎症反应, 进一步诱导内皮细胞损伤。溶血磷脂酰胆碱 (LPC) 是Ox-LDL的主要成分, LPC可通过结合TLR 2和TLR 4受体激活NF- κ B、p38 MAPK和JUN信号通路。这些通路的激活可以诱导促炎因子的产生, 调节炎症和感染性疾病。^[22]

凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 (LOX-1) 是一种II型膜蛋白, 具有短的胞质尾区和胞外结构域。是内皮细胞主要的Ox-LDL受体, 可被促炎、促氧化和机械刺激快速诱导。^[23]在一项实验的动物模型中, LOX-1基因敲除小鼠内膜厚度和炎症减少, 保护因子表达增加; 相反LOX-1过表达的小鼠会表现出动脉粥样硬化损伤加速形成, 这与炎症增加有关。而抑制LOX-1可改善缺氧诱导的肺动脉平滑肌细胞增殖, 这一发现, 为LOX-1可否作为PH治疗的潜在靶点提供了理论依据与实验支持。

^[24]由此可见, 脂质蓄积不仅是动脉粥样硬化的被动事件, 而且可能诱导病变发展, 从而触发肺动脉高压中的血管炎性反应。

(二) LDL及其亚类与血栓形成

原位血栓形成是肺动脉高压中一重大发现, 会导致血管内皮细胞损伤、纤溶系统异常、促凝血功能增强和血小板异常。有新的证据表明, 脂蛋白参与血栓形成, 并且超出了它们在动脉粥样硬化中发挥的传统作用。脂蛋白在调节血栓形成和止血以产生纤维蛋白凝块中的作用已得到充分描述。^[25]sd-LDL C是LDL的一种亚型, 具有促血栓形成作用, 它的升高可能改变循环和细胞膜脂质之间的交换, 从而降低红细胞变形性同时增加血液粘度, 血液粘度增加可能会增加血栓形成或血栓栓塞事件的风险。^[26]据报道, Ox-LDL和氧化磷脂可促进体内外血管生成反应, 而这些反应反过来也会导致斑块不稳定以及血栓形成。^[27]

在肺动脉高压中, 血栓形成与血小板异常紧密相关。血小板是小型无核的血细胞, 它在止血、血栓形成和免疫各方面发挥作用。^[28]CD36属于血小板中的一种B类清道夫受体, 存在于跨膜N端、C端以及大的细胞外环。在血脂异常时可能诱导血小板过度活化。前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶(PCSK 9)通过与血小板CD36结合, 激活CD36下游信号通路, 直接增强血小板活化和体内血栓形成。同时PCSK 9可增加血浆Ox-LDL水平, 这也会导致血小板过度活化。^[27]过度活化的血小板本身可促进脂蛋白氧化, 从而可能进一步放大Ox-LDL诱导血栓形成的作用。^[29]

此外, 脂蛋白的修饰导致致氧酸-低密度脂蛋白和糖化LDL产生血小板致敏颗粒。这些机制使LDL成为一个潜在的促血栓形成因子。^[30]LDL通过降低内皮一氧化氮的可用性和激活促炎信号传导途径来改变血管内皮的抗血栓形成特性并改变血管收缩性。^[31]在生理条件下, 内皮呈现具有抗血栓形成特性的表面。而血管内皮受损会引起功能障碍、促进血栓形成, 在长期患病的患者中, 微血栓形成造成的负担更高。^[32]从以上叙述中, 我们可以得知低密度脂蛋白是引起肺动脉高压患者肺血管血栓形成的危险因素。

(三) LDL及其亚类与氧化应激

内皮细胞是覆盖毛细血管和小动脉的半透性屏障, 在肺血管稳态中起着关键作用。健康的肺血管内皮屏障负责调节生长、血管张力、对损伤的反应、分化以及血

液和细胞的总体流量。因此, 内皮功能障碍在肺动脉高压发病中起着重要作用。^[32]氧化应激损伤或抗氧化状态的改变被认为是某些慢性疾病发病的关键。大量研究表明, 氧化应激在PAH的病理生理学中至关重要, 并涉及活性氧(ROS)、活性氮(RNS)和一氧化氮(NO)信号通路的变化。氧化应激通过多种方式参与PAH的形成和发展, 包括肺血管内皮细胞功能障碍、肺血管重构、肺平滑肌增殖和右心室肥厚。^[33]

Ox-LDL等细胞外刺激可引起细胞内ROS/RNS产生增加, 这引起氧化还原平衡的转变和随后下游信号级联的启动。现在认为线粒体可以促进氧化还原细胞信号传导, 并且线粒体ROS形成具有被控制的潜力。研究发现, 在PAH大鼠中, 功能障碍的线粒体还释放额外的ROS, 加重氧化应激状态。线粒体途径功能障碍是ROS过量产生的主要原因。^[34]

Ox-LDL是氧化应激的主要刺激物, 可加速平滑肌细胞增殖、泡沫细胞形成和内皮细胞凋亡。^[35]LOX-1是Ox-LDL的清道夫受体, 主要在内皮细胞中表达, Ox-LDL诱导内皮功能障碍和损伤, 因此LOX-1被认为是Ox-LDL诱导内皮功能障碍的关键分子。^[23]NO是一种关键的內皮源性物质, 介导内皮依赖性血管舒张并抑制LDL氧化。^[36]

先前的研究已经证明, LOX-1能激活Ox-LDL, 诱导ROS的产生, 并反过来刺激LOX-1的表达, 这表明ROS和LOX-1表达之间存在正反馈循环。Ox-LDL可急剧增加内皮细胞中不对称二甲基L-精氨酸(ADMA)的浓度, 并导致蛋白质精氨酸N-甲基转移酶(生成ADMA的酶)的表达上调。在内皮细胞中, ADMA会增加氧化应激, 并且在活化的巨噬细胞中, 它上调LOX-1的表达, 导致不良后果。^[37]

三、总结与展望

肺动脉高压最主要的病理生理特征是肺血管重构, 内皮细胞功能障碍在肺动脉高压发病机制中是关键。内皮细胞功能障碍通过促进血管收缩、平滑肌增殖以及炎症反应激活等一系列级联反应, 引起肺血管结构和功能异常。同时, PAH的特征是小肺动脉进行性闭塞, 导致肺血管阻力(PVR)增加, 引起右心衰, 25%-60%的患者在诊断后5年死亡。

近年来一些研究者发现, LDL, 特别是LDL的亚群——Ox-LDL, 与肺动脉高压的发生、发展具有千丝万缕的关系。LDL及其亚类脂蛋白与PAH的生存率及预

后密切相关，水平与死亡风险或可为正相关。本篇综述或可得出LDL及其亚类具有促进炎症产生、导致原位血栓形成以及加重氧化应激等作用。Ox-LDL的重要受体LOX-1存在于内皮细胞中，能够被以下原因诱导，包括炎症、氧化应激、机械刺激。在一项实验的动物模型中，研究人员发现将小鼠的LOX-1基因敲除，会使血管内皮保护因子表达增加，也就是说，抑制LOX-1可改善缺氧诱导的肺动脉平滑肌细胞增殖，这一发现，为LOX-1是否能够成为PAH治疗的潜在靶点提供了理论依据与实验支持。以及得出结论，LDL及亚类或可作为肺动脉高压患者生存率的一种预测因子。

参考文献

- [1]HOEPER M M, GHOFrani H-A, GR ü NIG E, et al. Pulmonary Hypertension [J]. Dtsch Arztebl Int, 2017, 114(5): 73-84.
- [2]HANSMANN G. Pulmonary Hypertension in Infants, Children, and Young Adults [J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 69(20): 2551-69.
- [3]HUANG J, AN Q, ZHANG C-L, et al. Decreased low-density lipoprotein and the presence of pulmonary arterial hypertension among newly diagnosed drug-naïve patients with systemic lupus erythematosus: D-dimer as a mediator [J]. Exp Ther Med, 2022, 24(3): 595.
- [4]UMAR S, RUFFENACH G, MOAZENI S, et al. Involvement of Low-Density Lipoprotein Receptor in the Pathogenesis of Pulmonary Hypertension [J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(2): e012063.
- [5]DI L, MAISEYEU A. Low-density lipoprotein nanomedicines: mechanisms of targeting, biology, and theranostic potential [J]. Drug Deliv, 2021, 28(1): 408-21.
- [6]OLSON R E. Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors [J]. J Nutr, 1998, 128(2 Suppl): 439S-43S.
- [7]RUDEL L L, KESäNIEMI Y A. Low-density lipoprotein particle composition: what is the contribution to atherogenicity? [J]. Curr Opin Lipidol, 2000, 11(3): 227-8.
- [8]米春芳, 刘庆平. 血浆低密度脂蛋白和高密度脂蛋白亚组分的临床意义及检测研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25 (10): 1054-60.
- [9]LOREGGER A, NELSON J K, ZELCER N. Assaying Low-Density-Lipoprotein (LDL) Uptake into Cells [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1583: 53-63.
- [10]SEVANIAN A, ASATRYAN L, ZIOUZENKOVA O. Low density lipoprotein (LDL) modification: basic concepts and relationship to atherosclerosis [J]. Blood Purif, 1999, 17(2-3): 66-78.
- [11]DESROCHES S, LAMARCHE B. Diet and low-density lipoprotein particle size [J]. Curr Atheroscler Rep, 2004, 6(6): 453-60.
- [12]ALIZADEH-FANALOU S, NAZARIZADEH A, ALIAN F, et al. Small dense low-density lipoprotein-lowering agents [J]. Biol Chem, 2020, 401(10): 1101-21.
- [13]NIMPF J, SCHNEIDER W J. From cholesterol transport to signal transduction: low density lipoprotein receptor, very low density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor-2 [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1529(1-3): 287-98.
- [14]SIRTORI C R, FUMAGALLI R. LDL-cholesterol lowering or HDL-cholesterol raising for cardiovascular prevention. A lesson from cholesterol turnover studies and others [J]. Atherosclerosis, 2006, 186(1): 1-11.
- [15]ALIZADEH-FANALOU S, NAZARIZADEH A, ALIAN F, et al. Small dense low-density lipoprotein-lowering agents [J]. Biol Chem, 2020, 401(10): 1101-21.
- [16]SPENGLER F A, THOMPSON G R. Receptor-mediated low-density lipoprotein catabolism [J]. Klin Wochenschr, 1982, 60(7): 319-25.
- [17]李怡华, 杜郁, 洪斌. 低密度脂蛋白受体表达调控的研究进展 [J]. 中国医药生物技术, 2020, 15 (06): 615-22.
- [18]HU Y, CHI L, KUEBLER W M, et al. Perivascular Inflammation in Pulmonary Arterial Hypertension [J]. Cells, 2020, 9(11).
- [19]VARGA J, PALINKAS A, LAJKO I, et al. Pulmonary Arterial Pressure Response During Exercise in COPD: A Correlation with C-Reactive Protein (hsCRP) [J]. Open Respir Med J, 2016, 10.
- [20]KOPEĆ G, WALIG ó RA M, TYRKA A, et al. Low-density lipoprotein cholesterol and survival in pulmonary arterial hypertension [J]. Sci Rep, 2017, 7: 41650.
- [21]OBAMA T, ITABE H. Neutrophils as a Novel

Target of Modified Low-Density Lipoproteins and an Accelerator of Cardiovascular Diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21).

[22]LIU P, ZHU W, CHEN C, et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases [J]. *Life Sci*, 2020, 247: 117443.

[23]OGURA S, SHIMOSAWA T, MU S, et al. Oxidative stress augments pulmonary hypertension in chronically hypoxic mice overexpressing the oxidized LDL receptor [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 305(2): H155–H62.

[24]ZHANG W, ZHU T, WU W, et al. LOX-1 mediated phenotypic switching of pulmonary arterial smooth muscle cells contributes to hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818: 84–95.

[25]DING W Y, PROTTY M B, DAVIES I G, et al. Relationship between lipoproteins, thrombosis, and atrial fibrillation [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(3): 716–31.

[26]HSU S H-J, JANG M-H, TORNG P-L, et al. Positive Association Between Small Dense Low-Density Lipoprotein Cholesterol Concentration and Biomarkers of Inflammation, Thrombosis, and Prediabetes in Non-Diabetic Adults [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2019, 26(7): 624–35.

[27]QI Z, HU L, ZHANG J, et al. PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9) Enhances Platelet Activation, Thrombosis, and Myocardial Infarct Expansion by Binding to Platelet CD36 [J]. *Circulation*, 2021, 143(1): 45–61.

[28]LANNAN K L, PHIPPS R P, WHITE R J. Thrombosis, platelets, microparticles and PAH: more than a clot [J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19(8): 1230–5.

[29]OBERMAYER G, AFONYUSHKIN T, BINDER

C J. Oxidized low-density lipoprotein in inflammation-driven thrombosis [J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(3): 418–28.

[30]RELOU I A M, HACKENG C M, AKKERMAN J W N, et al. Low-density lipoprotein and its effect on human blood platelets [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60(5): 961–71.

[31]BADIM Ó N L, VILAHUR G, PADR Ó T. Lipoproteins, platelets and atherothrombosis [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2009, 62(10): 1161–78.

[32]SHAH A J, VORLA M, KALRA D K. Molecular Pathways in Pulmonary Arterial Hypertension [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17).

[33]XU D, HU Y-H, GOU X, et al. Oxidative Stress and Antioxidative Therapy in Pulmonary Arterial Hypertension [J]. *Molecules*, 2022, 27(12).

[34]LIU Y, CHEN X, LI J. Resveratrol protects against oxidized low-density lipoprotein-induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis via inhibition of mitochondrial-derived oxidative stress [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5): 2457–64.

[35]ZMIJEWSKI J W, MOELLERING D R, LE GOFFE C, et al. Oxidized LDL induces mitochondrially associated reactive oxygen/nitrogen species formation in endothelial cells [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(2): H852–H61.

[36]TANG Y, ZHAO J, SHEN L, et al. ox-LDL induces endothelial dysfunction by promoting Arp2/3 complex expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 475(2): 182–8.

[37]GALLE J, HANSEN-HAGGE T, WANNER C, et al. Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 185(2): 219–26.