

ЛИПОПРОТЕИН (А) – НЕЗАВИСИМЫЙ ФАКТОР РИСКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ. ЗНАЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

О.С. Калачева³, М.Г. Вершинина^{1,2*}, Г.А. Коновалов³, Н.А. Стериополо^{1,3}

¹ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва

² ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва

³ АО «Группа компаний «МЕДСИ», Москва

LIPOPROTEIN (A) IS AN INDEPENDENT RISK FACTOR FOR CARDIOVASCULAR EVENTS. IMPORTANCE OF LABORATORY DIAGNOSTICS

O.S. Kalacheva³, M.G. Vershinina^{1,2*}, G.A. Konovalov³, N.A. Steriopol^{1,3}

¹ Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

² National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

³ JSC "MEDSI Group of Companies", Moscow, Russia

*E-mail: labckb@gmail.com

Аннотация

Липопротеин (а) (Лп(а)) представляет собой сложный комплекс, состоящий из частицы, подобной липопротеину низкой плотности (ЛНП), и аполипопротеина (а) (апо(а)). Повышенный уровень Лп(а) является независимым фактором риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (АС ССЗ) и может служить основой для принятия клинических решений по управлению рисками. Лп(а) отличается от ЛНП наличием уникального гликопротеина апо(а), который связывается с аполипопротеином В-100 посредством дисульфидной связи. Это структурное отличие обуславливает вариации в молекулярной массе, плотности и электрофоретической подвижности Лп(а). Гены, кодирующие апо(а), являются важным фактором в определении уровня Лп(а). Полиморфизмы в генах могут значительно влиять на уровень Лп(а) и, соответственно, на риск развития ССЗ. Определение уровней Лп(а) в клинико-диагностических лабораториях осуществляется методом иммуноанализа с использованием антител, специфичных именно к апо(а). Однако из-за вариабельности размеров апо(а) и наличия различных генетически обусловленных изоформ стандартизация измерений затруднена. Разные методы измерения могут давать заниженные или завышенные результаты из-за размеров апо(а), а также из-за различий в калибровке. Высокоомологичная повторяющаяся структура Лп(а), так называемая kringle IV, насчитывает до 40 повторов и обуславливает высокую полиморфность белка. Антитела к апо(а) в основном направлены против повторяющейся структуры этого белка, что затрудняет измерение Лп(а) в молярном выражении. Описаны варианты измерения как в массовых (мг/дл), так и в молярных единицах (нмоль/л), однако перевод из одних единиц измерения в другие возможен лишь приблизительно. Рабочие группы по стандартизации измерений Лп(а) занимаются подготовкой широкодоступных и усовершенствованных эталонных материалов, что станет важным шагом в стандартизации измерения Лп(а). Включение тестирования Лп(а) в стандартные кардиологические обследования может существенно улучшить профилактику и лечение АС ССЗ, особенно в группах с высокой генетической предрасположенностью.

Ключевые слова: липопротеин (а), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания, факторы риска, лабораторная диагностика, иммуноанализ, стандартизация.

Abstract

Lipoprotein (a) (Lp(a)) is a compound complex consisting of a low-density lipoprotein (LDL)-like particle and apolipoprotein (a) (apo(a)). Elevated Lp(a) levels are an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease and can serve as a basis for clinical risk management decisions. Lp(a) differs from LDL because it has a unique glycoprotein apo(a) which binds to apoprotein B-100 (apoB-100) via disulfide bond. This structural difference causes variations in the molecular weight, density and electrophoretic mobility of Lp(a). Genes encoding apo(a) are an important factor in determining Lp(a) levels. Polymorphisms in genes can significantly affect Lp(a) levels and, accordingly, the risk of developing cardio-vascular diseases (CVD). Lp(a) levels in clinical diagnostic laboratories are assessed with immunoassay test using antibodies specific to apo(a). However, due to the variability in apo(a) size and different genetically determined isoforms, standardization of measurements is difficult. Different measurement methods may underestimate or overestimate results due to apo(a) size and differences in calibration. The highly homologous repeating structure Lp(a), the so-called kringle IV, has up to 40 repeats and determines high polymorphism of the protein. Antibodies to apo(a) are primarily directed against the repeat structure of this protein, making it difficult to measure Lp(a) in molar terms. Measurement options are described in both mass (mg/dl) and molar (nmol/l) units, however, conversion from one unit of measurement to another one is possible only approximately. Lp(a) standardization task force groups are developing widely available and improved reference materials what is an important step in the standardization of Lp(a) measurements. Incorporating Lp(a) tests into routine cardiac examinations may significantly improve prevention and treatment of atherosclerotic CVD, especially in groups with high genetic predisposition.

Keywords: lipoprotein(a), atherosclerotic cardiovascular diseases, risk factors, laboratory diagnostics, immunoassay, standardization.

Ссылка для цитирования: Калачева О.С., Вершинина М.Г., Коновалов Г.А., Стериополо Н.А. Липопротеин (а) – независимый фактор риска сердечно-сосудистых событий. Значение лабораторной диагностики. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2024; 3: 48–56.

Введение

В 1963 г. генетик Каре Берг идентифицировал уникальный антиген во фракции липопротеинов низкой плотности (ЛНП) сыворотки крови человека, который назвал аполипопротеином (а) (апо(а)). Он обнаружил генетический контроль уровней липопротеина (а) (Лп(а)) и к 1974 г. связал высокий уровень концентрации Лп(а) с ишемической болезнью сердца (ИБС). Подтверждение такой связи потребовало усовершенствования анализов для измерения Лп(а), и к середине 1980-х гг. результаты многочисленных ретроспективных и перекрестных исследований подтвердили первоначальное наблюдение Берга.

Высокие уровни Лп(а) являются независимым и причинным фактором риска развития атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (АС ССЗ) через механизмы, связанные с усилением атерогенеза, воспаления и тромбоза. Лп(а) являются преимущественно моногенной детерминантой сердечно-сосудистого риска, при этом от 70 до ≥90% межличудивидуальной гетерогенности уровней определяется генетически. Лп(а) остается фактором риска развития ССЗ даже при эффективном снижении уровня холестерина ЛНП и апоВ-100 в плазме крови.

Лп(а) является патологической фракцией липопротеинов, обладающей выраженными атерогенными свойствами. Вероятно, атерогенность Лп(а) имеет многофакторный характер. Благодаря наличию специфической структуры Лп(а) наряду с ЛНП может связывать холестерин (ХС) и переносить его в сосудистую стенку. Комплекс апо(а) с аполипопротеином В-100 (апоВ-100) задерживает деградацию апоВ-100 через классический рецепторный путь, создавая тем самым предпосылки для его более длительной циркуляции в плазме крови, модификационных изменений и поступления в клетки путем нерегулируемого эндоцитоза. Проатерогенный эффект Лп(а) также связан с его прокоагулянтным действием, поскольку Лп(а) имеет структуру, схожую со строением плазминогена, а также обладает провоспалительными свойствами и в высоких концентрациях способен вызывать эндотелиальную дисфункцию [1].

Липопротеин (а): структура, синтез и метаболизм

Лп(а) является вариантом холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП), отличающимся ковалентным связыванием апоВ-100 с уникальным гликопротеином апо(а) через дисульфидную тиоэфирную связь, что приводит к вариациям молекулярной массы, плотности и электрофоретической подвижности по сравнению с ХС-ЛНП. На рис. 1 представлено схематическое изображение структуры частицы Лп(а) [2].

Апо(а) обладает высокой полиморфностью и содержит переменное количество богатых цистеином доменов, известных как кринглы (от англ. kringle). Кринглы представляют собой трехпетлевые структуры, стабилизированные внутренними дисульфидными связями. Они обнаружены в факторах свертывания крови, таких как плазминоген, протромбин, урокиназа и активаторы плазминогена тканевого типа. В то время как плазминоген содержит кринглы пяти доменов (KI, KII, KIII, KIV и KV) и один домен протеазы, апо(а) состоит из повторов крингла IV (от KIV₁ до KIV₁₀), уникальной части, представленной одним доменом крингла V (KV), и каталитически неактивного домена протеазы на карбоксильном конце.

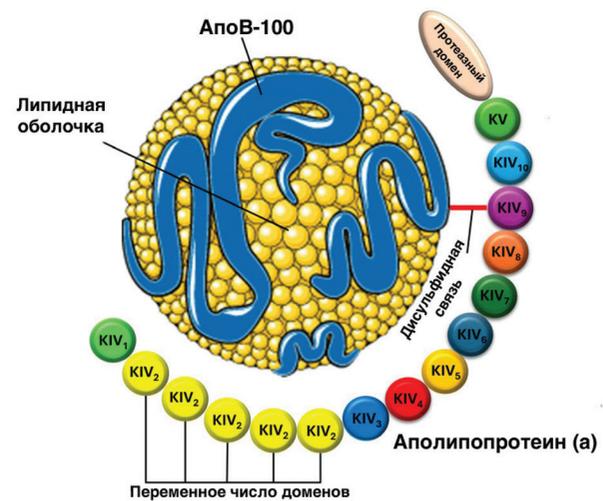


Рис. 1. Структура липопротеина (а) (адаптировано из [2])

Элемент KIV₂ может повторяться более 40 раз, что в конечном итоге приводит к полиморфизму размера апо(а) с молекулярной массой от ≈ 250 до 800 кДа. Важно отметить, что белок-кодирующие экзоны в высокой степени гомологичны соответствующим экзонам других кринглов с идентичностью оснований более 70% между различными KIV и 98–100% – между экзонами KIV₂. Гомология между KIV-повторами и KV гораздо менее выражена. В зависимости от изоформы до 70% белка может состоять из высокогомологичных повторов KIV₂. Эти гомологичные структуры являются источником возможных проблем при измерении уровня Лп(а), связанных в основном с антителами и калибраторами, используемыми в системах анализа [2, 3].

Ген *LPA*, кодирующий апо(а)-компонент частицы Лп(а) и расположенный на длинном плече хромосомы 6 в пределах 6q2.6–2.7, обнаруживает гомологию до 70% с геном плазминогена. Неоднородность апо(а) и, следовательно, размера Лп(а), основанная на количестве копий KIV₂, играет центральную роль в контроле уровня циркуляции Лп(а). Меньшее количество повторов KIV₂ уменьшает размер апо(а), что приводит к более высоким уровням Лп(а), поскольку гепатоциты могут производить более мелкие частицы апо(а) с более высокой скоростью.

Изоформы апо(а) модифицируются многими SNP, распределенными во всем диапазоне частот аллелей, что оказывает очень сильное влияние на концентрации Лп(а). Полногеномные исследования идентифицируют два SNP в гене *LPA*, которые очень сильно и независимо коррелируют с повышенными уровнями Лп(а) и более высоким риском ССЗ: *rs3798220* и *rs10455872* SNP. Однако механизмы, подчеркивающие влияние SNP на размер апо(а) и уровни Лп(а), все еще недостаточно понятны. Крупные исследования показывают, что полиморфизмы гена *LPA*, такие как *rs783147*, *rs3798220* и *rs10455872*, также тесно связаны с ССЗ, выражаются в увеличении толщины интимы-медиа сонных артерий и нарушении функции эндотелия, что указывает на прямую роль SNP гена *LPA* в ранних атеросклеротических изменениях [2, 4].

Уровень Лп(а) приблизительно на 90% является наследственно обусловленным и мало изменяется в течение жизни. Концентрация Лп(а) у разных лиц может варьировать в широких пределах: от 0.2 до 200 мг/дл. Уровень Лп(а)

также различается в различных популяциях: африканцы отличаются повышенной концентрацией Лп(а), которая в среднем в семь раз превышает этот показатель у представителей европейской и азиатской популяций [2, 5].

Апо(а) синтезируется в печени. Концентрация Лп(а) у разных людей определяется скоростью производства, а не различиями в каталитической скорости. После секреции апо(а) связывается с остатками ЛНП-апоВ-100 посредством своих лизинсвязывающих участков с последующим образованием дисульфидной связи. Происходит ли сборка в кровообращении на поверхности печени или внутриклеточно, является в данный момент предметом дискуссий.

Место и механизм катаболизма Лп(а) также спорны. Исследования на мышах показали, что печень является основным путем катаболизма Лп(а). Обнаружение артериальной разницы концентраций Лп(а) в почечном кровообращении, фрагментов апо(а) в моче и нарушения метаболизма Лп(а) при заболевании почек также предполагает роль почек в катаболизме Лп(а). Рецепторы, участвующие в катаболическом процессе, включают в себя рецептор ЛНП, рецептор липопротеина очень низкой плотности (ЛОНП), белки, связанные с рецептором ЛНП (LRP1 и LRP2), толл-подобные рецепторы и рецепторы-мусорщики (например, CD36 и SR-BI), углеводные рецепторы или лектины и рецепторы плазминогена [2].

Лп(а) проявляет атерогенное действие при переносе из системы кровообращения на артериальную стенку. В целом артериальный приток липопротеинов зависит от проницаемости артериальной стенки, концентрации липопротеинов в плазме и артериального давления. Лп(а) обнаружен в сосудах человека и концентрируется главным образом внеклеточно в интиме и субинтиме. Закрепление Лп(а) зависит от двух его компонентов: его липопротеиновой структуры и сайтов связывания лизина апо(а). Примечательно, что Лп(а) накапливается в артериальной стенке в большей степени, чем ЛНП, о чем свидетельствуют относительные количества апо(а) и апоВ-100, обнаруженные в ранних атеросклеротических бляшках. Лп(а) способствует инициации атерогенеза путем модуляции рекрутирования воспалительных клеток в стенке сосуда. Окисление частиц Лп(а) влияет на распознавание рецепторов-мусорщиков, захват, скорость катаболизма и удержание в стенке сосуда. Повышенные уровни окисления частиц Лп(а) наблюдались при атеросклеротических поражениях. Окисление частиц Лп(а) действует как митоген на гладкомышечные клетки сосудов человека. Содержание углеводов в апо(а) составляет 28%. Неферментативное гликирование Лп(а) при сахарном диабете увеличивает атерогенный потенциал. Гликирование усиливает действие ингибитора активатора плазминогена-1. Лп(а) также влияет на стабильность атеросклеротических бляшек. Металлопротеиназы и эластазы представляют собой ферменты, обнаруживаемые в атеросклеротических участках. Они ответственны за расщепление Лп(а) на два фрагмента: F1 и F2, из которых именно F2 взаимодействует с фибриногеном, фибронектином и декорином, которые, в свою очередь, являются ключевыми молекулами, участвующими в действиях Лп(а) [2, 6].

Липопротеин (а) – независимый фактор риска сердечно-сосудистых событий

Все больше исследователей склоняются к мнению, что повышение уровня Лп(а), по-видимому, представляет собой еще одну особую разновидность дислипидемии,

распространенность которой в два раза выше, чем у семейной гиперхолестеринемии (СГХС). Повышение Лп(а) в два-три раза увеличивает вероятность развития ССЗ. Так, было показано, что лица с чрезмерно повышенным уровнем Лп(а) > 180 мг/дл (> 430 ммоль/л) подвержены повышенному риску развития ССЗ атеросклеротического генеза в течение жизни аналогично пациентам с гетерозиготной СГХС. Уровень Лп(а) > 180 мг/дл указывает на очень высокий риск ССЗ, Лп(а) > 50 мг/дл – на высокий риск. Желательный уровень Лп(а) < 30 мг/дл.

Повышенный уровень Лп(а) ассоциирован с тяжелыми формами атеросклероза: множественным поражением коронарных сосудов, развитием значительного стеноза. Никакой другой из липидных показателей не обладает таким влиянием на развитие ИБС. Это обстоятельство позволяет считать Лп(а) маркером ранних и тяжелых форм ИБС, причем независимым от других факторов риска, то есть у пациента без традиционных факторов риска (некурящего, без отклонений в липидограмме, не страдающего артериальной гипертензией и сахарным диабетом), но с повышенным Лп(а) повышен риск развития ИБС. Избыток Лп(а) связан с риском инфаркта миокарда даже у пациентов с минимальными изменениями на ангиограмме. Уровень Лп(а) необходимо контролировать людям с отягощенным наследственным анамнезом по ранним формам ИБС даже при отсутствии у них традиционных факторов риска.

Сочетание повышенной концентрации Лп(а) и факторов риска гораздо больше увеличивает риск ИБС. Например, повышение Лп(а) в сочетании с высоким уровнем ЛНП увеличивает риск развития ИБС в 12 раз, а в сочетании с гипергомоцистеинемией – в 30 раз. Лп(а) является фактором риска развития транзиторной ишемической атаки и раннего ишемического и геморрагического инсульта, а также инсульта у детей.

Высокая концентрация Лп(а) приводит к эндотелиальной дисфункции и, как следствие, к заболеваниям периферических сосудов, причем вероятность их развития у пациентов с повышенным Лп(а) даже выше, чем у страдающих сахарным диабетом.

Повышением уровня Лп(а) можно частично объяснить остаточный риск у пациентов, находящихся на адекватной липидснижающей терапии, когда достигаются целевые значения ХС-ЛНП [5–16].

В настоящее время нет единых пороговых значений для определения риска Лп(а). В многочисленных глобальных клинических руководствах и консенсусных заявлениях экспертов рекомендуется проводить скрининг Лп(а) для контроля дислипидемии и снижения риска ССЗ, опосредованного Лп(а): > 30 мг/дл в условиях первичной профилактики; < 50 мг/дл в качестве оптимального уровня (ESC/EAS); > 100 ммоль/л в качестве оптимального уровня; 80-й перцентиль для популяционных уровней; > 50 мг/дл или > 125 ммоль/л как модификатор риска, предложенный ACC/АНА (рис. 2) [1, 17–26].

Согласно рекомендациям ESC/EAS по лечению дислипидемий 2019 г. [20], измерение Лп(а) следует выполнять хотя бы однократно каждому взрослому с целью выявления лиц с очень высоким наследственным уровнем. Измерение Лп(а) оправданно у отдельных пациентов с семейным анамнезом преждевременного развития ССЗ, а также в целях реклассификации лиц с пограничным (между умеренным и высоким) уровнем риска. В россий-

| | Когда? | Кто? | | | | Почему? | | | |
|----------------------------|---------------------|--------------|--|---------------------------------------|--------------------------------------|---|-------------------------------|---|---------------------------|
| | Хотя бы раз в жизни | Все пациенты | * Семейный и/или индивид. анамнез АС ССЗ | Риск АС ССЗ от умеренного до высокого | Резистент. к липид-снижающей терапии | Выявленные пациенты с очень высоким Лп(а) | Реклассификация рисков АС ССЗ | Оптимизация коррекции других факторов риска ССЗ | Выявление семейного риска |
| КР МЗ ¹ 2023 | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | | |
| NLA ² 2024 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| ACC ² 2022 | | | ✓ | | | | | | |
| AACE/ACE ² 2020 | | | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| NLA ² 2019 | | | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ | |
| AHA/ACC ¹ 2018 | | | ✓ | | | | | | |
| CCS ¹ 2021 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | | ✓ | |
| EAS ² 2022 | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ | | ✓ | ✓ |
| ESC/EAS ¹ 2019 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | | |

Примечание. 1 – клинические рекомендации, 2 – научное/согласованное заявление, КР МЗ – Клинические рекомендации Минздрава России [17], AHA/ACC – Американская кардиологическая ассоциация / Американский колледж кардиологов [1, 18], CCS – Канадское кардиоваскулярное общество [19], ESC/EAS – Европейское общество кардиологов / Европейское общество по атеросклерозу [20], ACC – Американский колледж кардиологов [21], AACE/ACE – Американская ассоциация клинической эндокринологии / Американский колледж эндокринологии [22], EAS – Европейское общество по атеросклерозу [23], NLA – Национальная ассоциация по липидам [24, 25].

* Атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (АС ССЗ) определяется как встречающееся у мужчин в возрасте < 55 лет и женщин в возрасте < 65 лет.

Рис. 2. Клинические рекомендации и консенсусные заявления рекомендуют проводить скрининг на Лп(а) (адаптировано из [26])

ских клинических рекомендациях КР ID:752 «Нарушения липидного обмена» содержится: «Хотя бы раз в жизни у любого взрослого рекомендовано измерить уровень Лп(а) в крови. При значении Лп(а) > 180 мг/дл риск эквивалентен гетерозиготной СГХС. У пациентов с отягощенным семейным анамнезом рекомендовано измерять уровень Лп(а) в крови. Уровень Лп(а) > 50 мг/дл ассоциируется с увеличением сердечно-сосудистого риска» [17].

Новые гиполипидемические агенты – PCSK9. Пропротеиновая конвертаза субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) – растворимая протеаза, которая была открыта в 2003 г. канадским ученым N.G. Seidah. PCSK9 является частью семейства секреторных сериновых протеиназ, называемых пропротеиновыми конвертазами, и первоначально была названа «конвертаза-1, регулирующая апоптоз нейронов (NARC-1)».

Основным источником PCSK9 являются гепатоциты, секретирующие его в кровотоки. Однако и другие клетки организма могут продуцировать и секретировать PCSK9, например клетки кишечника, поджелудочной железы, жировой ткани, почек и мозга.

Наиболее известной и клинически значимой функцией PCSK9 является его воздействие на рецептор ЛНП, с которым он связывается на поверхности гепатоцита, способствуя лизосомальной деградации. PCSK9 вырабатывается в эндоплазматическом ретикулуме и имеет молекулярную массу 120 кДа. В присутствии PCSK9 рецептор ЛНП подвергается деградации, что приводит к снижению

его рециркуляции и, следовательно, к повышению уровня ЛНП в плазме крови [5, 10, 27].

В клинических рекомендациях Российского кардиологического общества [17, 28] и Европейского кардиологического общества [20], а также в рекомендациях Американской коллегии сердца [18] ингибиторы PCSK9 являются препаратами дополнительной гиполипидемической терапии при недостижении целевых показателей ЛНП у пациентов высокого риска (< 1.8 ммоль/л) и очень высокого риска (< 1.4 ммоль/л), снижении ЛНП менее, чем на 50% от исходных значений на максимальной терапии статинами и эзетимибом, а также при непереносимости статинов. Последние данные, касающиеся ингибиторов PCSK9, указывают на снижение уровня Лп(а) на 20–30% на фоне терапии этими препаратами, что, возможно, играет определенную роль в интегральном уменьшении сердечно-сосудистого риска, ассоциированного с кумабами.

С учетом перспективы того, что ингибиторы PCSK9 радикально изменят подходы к профилактике и лечению ССЗ, необходима согласованная работа всех сторон (ученые, клиницисты, руководящие комитеты, группы защиты пациентов) для того, чтобы обеспечить надлежащую оценку, одобрение, распределение и внедрение терапии, нацеленной на PCSK9 [5, 10, 27].

Таргетная гиполипидемическая терапия. Мипомерсен является антисмысловым олигонуклеотидом второго поколения, который специфически нацеливается и гибридируется с матричной РНК апоВ-100, что приводит к ее

деградации и блокирует ее трансляцию. Этот механизм приводит к снижению выработки печенью всех апоВ-100-содержащих атерогенных липопротеинов, включая Лп(а). В 2013 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (The U.S. Food and Drug Administration – FDA) одобрило мипомерсен в качестве дополнения к гиполипидемической терапии и диетическим модификациям для снижения уровня ХС-ЛНП, апоВ-100 и атерогенных фракций липопротеинов у пациентов с диагнозом «гомозиготная СГХС». По данным сводного анализа четырех рандомизированных контролируемых исследований фазы III применения мипомерсена с участием 382 пациентов с различными типами гиперлипидемии и сердечно-сосудистым риском, отмечено снижение уровня Лп(а) в среднем на 26.4% по сравнению с плацебо.

Инклизирин, двухцепочечная малая интерферирующая РНК, подавляет трансляцию мРНК PCSK9, что приводит к снижению синтеза белка PCSK9. Он одобрен как Европейским медицинским агентством (The European Medicines Agency – EMA), так и FDA для снижения уровня ХС-ЛНП, аналогично моноклональным ингибиторам PCSK9. Помимо его эффективности против ХС-ЛНП, несколько крупных клинических исследований показали многообещающие результаты в снижении уровня Лп(а). Крупные исследования с исходами предоставят более убедительные доказательства относительно влияния инклизирана на уровни Лп(а) и его способности снижать нежелательные сердечно-сосудистые события. ORION-4, включающий участников с ранее существовавшими ССЗ, и VICTORION-2 PREVENT, включающий участников с установленными ССЗ, являются продолжающимися исследованиями фазы III, в которых, как ожидается, будет оценено влияние инклизирана на снижение нежелательных исходов [2, 27].

Аферез ЛНП и Лп(а) – терапевтические методики для селективного удаления из кровотока апоВ-100-содержащих липопротеинов, в том числе Лп(а). Было обнаружено, что применение афереза, помимо основной функции снижения уровня липопротеинов, также оказывает различные плейотропные эффекты: уменьшение воспаления, улучшение вязкости крови и улучшение функции эндотелия. Кроме того, получены свидетельства того, что аферез может удалять внеклеточные везикулы у пациентов с повышенным уровнем Лп(а) в сыворотке крови.

Существует несколько методов выполнения афереза ЛНП и Лп(а), включая методы адсорбции, осаждения и фильтрации. Эти методики, как правило, показаны лицам с СГХС (как гетерозиготной, так и гомозиготной), которым не удастся достичь терапевтических целей, несмотря на максимально переносимую гиполипидемическую терапию. Однако стоит отметить, что после афереза ЛНП и Лп(а) может возникнуть феномен рикошета, при котором концентрации ХС-ЛНП и Лп(а) временно повышаются за счет тканевого холестерина. При применении этих технологий у пациентов с наследственной гиперлипидемией уровень липопротеинов возвращается к исходному примерно через две недели после лечения.

Несмотря на то что было показано, что аферез значительно снижает концентрацию Лп(а), его клиническое влияние на снижение риска ССЗ все еще является предметом споров. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что аферез может улучшить исходы ССЗ, при этом зарегистри-

рованное снижение частоты ССЗ колеблется от 54 до 90%. В Германии аферез рекомендуется лицам с концентрацией Лп(а) > 60 мг/дл и прогрессирующим ССЗ независимо от уровня ХС-ЛНП. Согласно данным Немецкого регистра липопротеинового афереза (GLAR), полученным в результате обсервационных исследований и без рандомизированных контрольных групп, снижение уровня Лп(а) зафиксировано на 72%, а снижение серьезных сердечно-сосудистых событий после афереза – на 97%. Таким образом, в целом аферез эффективно снижает уровень Лп(а) и показал результаты в улучшении исходов ССЗ [2, 29–31].

Обзор лабораторной диагностики липопротеина (а)

Для измерения Лп(а) в образцах плазмы или сыворотки человека можно использовать разные методы, такие как радиальная иммунодиффузия, электроиммуноанализ, радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ (ИФА), иммунотурбидиметрия, нефелометрия, флуоресцентный иммуноанализ с лантанидами с диссоциацией, флуоресцентный иммуноанализ концентрации частиц, электрофоретический метод и электрофорез с иммунофиксацией. Из них коммерчески доступными в настоящее время являются ИФА и иммунотурбидиметрия.

Измерение Лп(а) затруднительно. Хотя для Лп(а) было разработано несколько иммуноанализов, флуоресцентных анализов и электрофоретических методов, стандартизация анализа Лп(а) оказалась невозможной из-за разной реактивности антител к различным фенотипам Лп(а). Повторяющаяся структура и высокая гомология между повторяющимися структурами являются проблемой для измерения кодируемого белка: если антитело направлено против повторяющегося мотива, белок может быть распознан антителом более одного раза, что делает измерение в молярных единицах маловероятным. Даже если антитело направлено против уникального крингла KV, это не означает, что каждая молекула апо(а) распознается только один раз, поскольку в KV есть гомологичные участки по сравнению с повторами KIV (рис. 3) [32].

Выработка антител против апо(а), распознающих уникальный мотив, является трудоемкой задачей. Известно и описано очень немного антител, направленных против уникального эпитопа апо(а). Большинство используемых в иммунотурбидиметрических или нефелометрических методах антител получены от животных и имеют поликлональную природу, поэтому различные субклоны распознают различные эпитопы апо(а). Таким образом, очень велика вероятность того, что эти поликлональные антитела направлены против повторяющегося мотива в белке апо(а). Это может привести к погрешности измерений со следующими двумя последствиями: во-первых, заниженной концентрацией малых изоформ в сыворотке крови с меньшим числом KIV-повторов, которые обычно ассоциируются с повышенными уровнями Лп(а); во-вторых, завышенной сывороточной концентрацией крупных изоформ с большим числом KIV-повторов, которые обычно ассоциируются с низкими уровнями Лп(а). Методы, имеющие такое смещение, называются апо(а)-изоформ-чувствительными.

Альтернативный подход, позволяющий избежать чувствительности анализа к апо(а), заключается в использовании антител, направленных против апоВ-100 Лп(а), поскольку каждая молекула Лп(а) содержит только один апоВ-100.

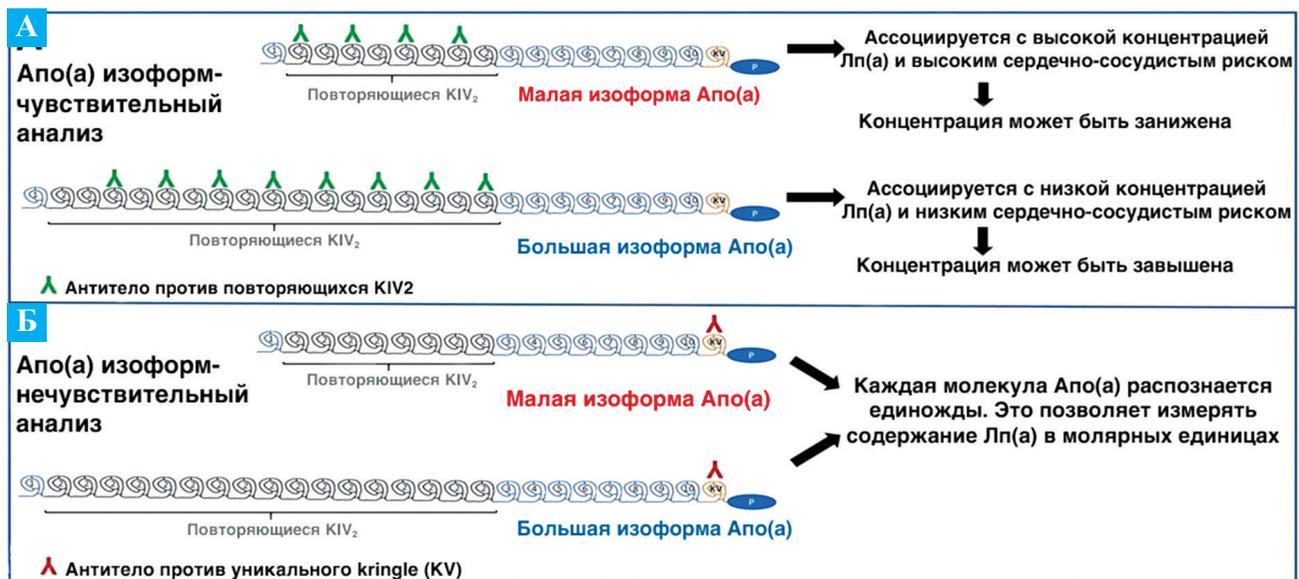


Рис. 3. Схематическое изображение апо(а)-изоформ-чувствительного анализа концентраций Лп(а): **А** – при использовании антител, направленных против повторяющегося крингла IV типа 2 (KIV₂); **В** – в случае апо(а)-изоформ-чувствительного анализа с использованием антител, направленных против структуры крингла V (адаптировано из [32])

Этот подход применим при ИФА, при котором антитело, направленное против апо(а), связывается с подложкой, которая захватывает частицу Лп(а). При этом не имеет значения, используются поликлональные или моноклональные антитела; они могут быть направлены даже против повторяющегося KIV. После того как Лп(а) из сыворотки/плазмы связывается с антителом, оставшая часть сыворотки/плазмы вымывается. Для обнаружения используется второе антитело, направленное против апоВ-100. Поскольку Лп(а) содержит только одну молекулу апоВ-100, каждая частица Лп(а) распознается только один раз, что позволяет измерить молярный уровень Лп(а) [32–35].

Генетически детерминированы две изоформы апо(а), поэтому ожидается, что в сыворотке будет обнаружена смесь частиц Лп(а) двух разных размеров. Хотя > 95% всех людей гетерозиготны на уровне ДНК, только 50–70% типичной центральной европейской популяции представляют две изоформы на уровне белка в сыворотке, причем обе изоформы присутствуют в значительном количестве. Другие переносят только частицы Лп(а) с одной обнаруживаемой изоформой. Поскольку только 5% населения, как ожидается, генетически гомозиготны, одна из изоформ либо не экспрессируется, либо присутствует в сыворотке в очень низкой концентрации.

В зависимости от размера двух изоформ и их соотношения это может оказать более или менее сильное влияние на завышение или занижение концентрации Лп(а). Обычно если в сыворотке крови присутствуют две изоформы, то меньшая вносит больший вклад в общую концентрацию Лп(а). Однако у 20% людей, у которых в сыворотке обнаруживаются две изоформы, на долю большей изоформы приходится не менее 50% общей концентрации Лп(а). Если одна изоформа имеет меньший размер, а другая – больший, то занижение Лп(а) от малой изоформы и завышение Лп(а) от большой изоформы приблизительно уравниваются. Этот выравнивающий эффект не проявляется, когда обе изоформы имеют малый или большой размер [36, 37].

Калибратор – это «святая святых» диагностической лаборатории, так как каждый образец измеряется по от-

ношению к калибратору. В случае если для калибратора установлено неверное целевое значение, все измеряемые образцы систематически завышаются или занижаются. Первичный референтный стандарт (IFCC PRM-1), который стал основой для вторичных референтных стандартов (WHO/IFCC SRM-2B), представлял собой пул сывороток от 17 доноров и долгое время использовался диагностическими компаниями для калибровки анализов [38, 39].

Большинство производителей упоминают в своих протоколах, что их анализы были стандартизированы с использованием материала, предложенного IFCC (PRM-2), однако в клинической практике регулярно встречаются значительные различия в концентрациях Лп(а), сообщаемые разными лабораториями. Для решения этих проблем была создана рабочая группа по стандартизации ЛП(а) при поддержке ВОЗ и IFCC. Эта группа также обнаружила большие различия между методами определения уровня Лп(а), главным образом из-за отсутствия широкодоступного и оптимального эталонного материала [40].

Производители реагентов должны указывать размер изоформы апо(а) каждого калибратора, а также сообщать, являются ли многоточечные калибраторы просто разведениями определенного калибратора или состоят из разных калибраторов с разными размерами изоформы апо(а). Если калибратор изменяется с течением времени, об этом также должно быть сообщено, с указанием типа изменений и того, как это влияет на измеренные значения Лп(а) в определенном наборе образцов [32, 33, 41].

В исследовании Н. Schagnagl и соавт. [42] были оценены уровни Лп(а), измеренные в одних и тех же образцах с помощью шести коммерчески доступных анализов, и показано, что большинство двумерных коэффициентов корреляции превышали 0.9. Однако по сравнению с эталонным материалом ВОЗ/IFCC результаты различных анализов отличались от целевых значений в диапазоне от -8 до 22% в зависимости от концентрации. Авторы пришли к выводу, что текущие ошибки иммунологических анализов значительно различаются в клинически значимых диапазонах концентраций нелинейным образом, не пол-

Эталонный молярный тест Northwest Lipid Metabolism and Diabetes Research Laboratories (NLMDRL)
в сравнении с тестированием в единицах массы

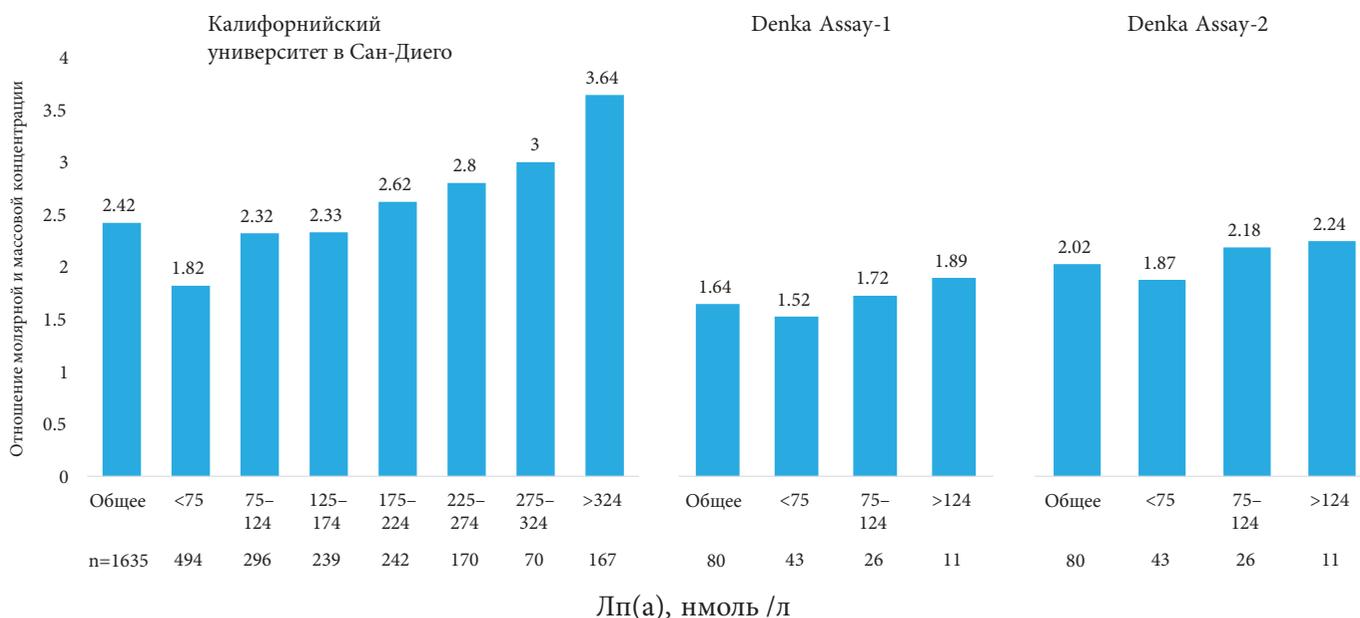


Рис. 4. Соотношения молярной и массовой концентрации Лп(а) для 80 образцов для анализа NLMDRL и двух анализов Denka с использованием двух разных наборов калибраторов (Denka Assay-1 и -2) (адаптировано из [44])

ностью зависящим от фенотипов apo(a). В исследовании, проведенном в 2021 г., измеряли Лп(а) с помощью пяти коммерчески доступных тестов, демонстрируя значительные различия при сравнении результатов со средним значением для всех методов [43].

Основным ограничением обоих дизайнов исследований является то, что сравнение результатов проводилось с использованием значений, полученных методами, калиброванными либо в мг/дл общей массы Лп(а), либо в нмоль/л. Однако оба исследования подтверждают необходимость стандартизации измерений Лп(а), прослеживаемости калибраторов до общего эталонного материала и выражения значений Лп(а) в молярных единицах.

Вопрос преобразования мг/дл в нмоль/л и наоборот часто поднимается, но по существу это невозможно. В исследовании S. Tsimikas и соавт. [44] сравнивали большое количество из 1635 образцов, измеренных с помощью эталонного молярного анализа NLMDRL и анализа Калифорнийского университета в Сан-Диего, который разделяет эпитопы на KIV_{5,7,8} и частично на KIV₂. На рис. 4 показано отношение молярной концентрации к массовой, которое составило 2.42 для всех образцов, а также диапазон от 1.82 для образцов с концентрацией < 75 нмоль/л до экстремального значения 3.64 для образцов с концентрацией > 324 нмоль/л.

Почти все коммерческие лабораторные тесты для измерения Лп(а) представляют собой нефелометрические или иммунотурбидиметрические системы с применением поликлональных антител против apo(a). Некоторые производители предлагают как массовый, так и молярный анализ на Лп(а). Однако из описания анализа можно сделать вывод, что в обоих анализах были использованы одни и те же типы поликлональных антител, одни и те же калибраторы, одна и та же система измерения, но данные указываются один раз в нмоль/л и один раз в мг/дл.

Означает ли это, что измерение проводится в молярном выражении? Очевидно, что нет. До тех пор пока в тест-системах используются поликлональные антитела, молярное измерение крайне маловероятно, так же как и использование одних и тех же антител для обоих анализов, ведь захват частицы Лп(а) полностью одинаков [32].

Альтернативой для определения Лп(а) в клинической практике может стать жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия (ЖХ-МС/МС). Ценность ЖХ-МС/МС заключается в том, что ее можно проследить до единиц СИ с использованием стратегии калибровки изотопного разбавления. Параллелизм между ИФА и ЖХ-МС/МС был продемонстрирован на наборе из 64 образцов с хорошо охарактеризованными изоформами apo(a). По результатам, полученным методом ЖХ-МС/МС, и результатам, полученным с помощью ИФА, $y = 0.98 \times \text{ИФА} + 3.18$. Дальнейшим подтверждением этого подхода стало превосходное согласие со значением вторичного эталонного материала ВОЗ/IFCC SRM-2B, которое составило 104.7 ± 8.4 нмоль/л по сравнению с присвоенным значением 107 нмоль/л [40, 45].

Заключение

Имеются веские основания для того, чтобы определять Лп(а). Эпидемиологические и генетические данные свидетельствуют о том, что гиперлипопротеинемия (а) – это метаболическое расстройство, которое является причинным фактором риска ССЗ и стеноза аортального клапана. Точное и правильное определение концентрации Лп(а) становится особенно актуальным в связи с появлением новых таргетных препаратов, снижающих концентрацию Лп(а) в плазме, что позволяет управлять рисками АС ССЗ. Это необходимо как в рамках клинических исследований оценки эффективности лекарственных препаратов, так и при дальнейшем мониторинге пациентов на такой терапии.

Несмотря на все имеющиеся в настоящее время ограничения, важно не только измерять уровень Лп(а) для лучшей стратификации риска, но и выявлять тех пациентов, которые могут больше всего нуждаться в будущей терапии, снижающей уровень Лп(а). Таким образом, больше нет причин для того, чтобы не измерить Лп(а) у каждого взрослого по крайней мере один раз.

Литература

1. Reyes-Soffer G. et al. Lipoprotein(a): a genetically determined, causal, and prevalent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* – 2022. – V. 42. – No 1. – P. 48–60. DOI: 10.1161/ATV.000000000000147.
2. Tsioulos G. et al. Lipoprotein(a) and atherosclerotic cardiovascular disease: where do we stand? // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – V. 25. – No 6. – P. 3537. DOI: 10.3390/ijms25063537.
3. Marcovina S.M. et al. Effect of the number of apolipoprotein(a) kringle 4 domains on immunochemical measurements of lipoprotein(a) // *Clin. Chem.* – 1995. – V. 41. – No 2. – P. 246–255. DOI: 10.1093/clinchem/41.2.246.
4. Coassin S. et al. Lipoprotein(a) beyond the kringle IV repeat polymorphism: The complexity of genetic variation in the LPA gene // *Atherosclerosis.* – 2022. – V. 349. – P. 17–35. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.04.003.
5. Афанасьева О.И. и др. Определение концентрации липопротеида (а) в клинической практике: актуальность и нерешенные вопросы // *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2021. – № 2 (43). – С. 47–56. [Afanasyeva O.I. et al. Analysis of the concentration of lipoprotein(a) in clinical practice: relevance and unsolved issues // *The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias.* – 2021. – No 2 (43). – P. 47–56. In Russian]. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2021.02.0004.
6. Jawi M.M. et al. Lipoprotein(a) the insurgent: a new insight into the structure, function, metabolism, pathogenicity, and medications affecting lipoprotein(a) molecule // *J. Lipids.* – 2020. – V. 2020. – 26 p. DOI: 10.1155/2020/3491764.
7. Chan D.C. et al. Effect of lipoprotein(a) on the diagnosis of familial hypercholesterolemia: does it make a difference in the clinic? // *Clin. Chem.* – 2019. – V. 65. – No 10. – P. 1258–1266. DOI: 10.1373/clinchem.2019.306738.
8. Ghose T. Lipoprotein a – Lp(a) // *Indian Heart J.* – 2024. – V. 76. – No 1. – P. 117–120. DOI: 10.1016/j.ihj.2023.12.010.
9. Lampsas S. et al. Lipoprotein(a) in atherosclerotic diseases: from pathophysiology to diagnosis and treatment // *Molecules.* – 2023. – V. 28. – No 3. – P. 969. DOI: 10.3390/molecules28030969.
10. Цыганкова О.В. и др. Клиническая и патофизиологическая роль липопротеина (а) в развитии атеросклероз-ассоциированных заболеваний // *РМЖ.* – 2020. – № 12. – С. 4–8. [Tsygankova O.V. et al. Clinical and pathophysiological role of lipoprotein (a) in the development of diseases associated with atherosclerosis // *RMJ.* – 2020. – No 12. – P. 4–8. In Russian].
11. Laffin L.J. et al. Lp(a) – an overlooked risk factor // *Trends Cardiovasc. Med.* – 2024. – V. 34. – No 3. – P. 193–199. DOI: 10.1016/j.tcm.2023.01.003.
12. Kronenberg F. et al. The challenges of measuring Lp(a): a fight against Hydra? // *Atherosclerosis.* – 2019. – V. 289. – P. 181–183. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.019.
13. Kronenberg F. Lipoprotein(a) / Prevention and treatment of atherosclerosis: improving state-of-the-art management and search for novel targets. In ed. von Eckardstein A. et al. // Cham (CH): Springer. – 2022.
14. Kronenberg F. Measuring lipoprotein(a): do it without ifs and buts // *Eur. J. Prev. Cardiol.* – 2022. – V. 29. – No 5. – P. 766–768. DOI: 10.1093/eurjpc/zwab180.
15. Marcovina S.M. et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute workshop on lipoprotein (a) and cardiovascular disease: recent advances and future directions // *Clin. Chem.* – 2003. – V. 49. – No 11. – P. 1785–1796. DOI: 10.1373/clinchem.2003.023689.
16. Nurmohamed N.S. et al. Considerations for routinely testing for high lipoprotein(a) // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2023. – V. 34. – No 4. – P. 174–179. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000838.
17. Ежов М.В. и др. Нарушения липидного обмена. Клинические рекомендации – 2023 // *Российский кардиологический журнал.* – 2023. – Т. 28. – № 5. – С. 5471. [Ezhov M.V. et al. Disorders of lipid metabolism. Clinical Guidelines 2023 // *Russian Journal of Cardiology.* – 2023. – V. 28. – No 5. – P. 5471. In Russian]. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5471
18. Grundy S.M. et al. 2018 АНА/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/ APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on clinical practice guidelines // *Circulation.* – 2019. – V. 139. – No 25. – P. 1082–e1143. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000625.
19. Pearson G.J. et al. 2021 Canadian cardiovascular society guidelines for the management of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in adults // *Can. J. Cardiol.* – 2021. – V. 37. – No 8. – P. 1129–1150. DOI: 10.1016/j.cjca.2021.03.016.
20. Mach F. et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk // *Eur. Heart J.* – 2020. – V. 41. – No 1. – P. 111–188. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
21. Writing C. et al. 2022 ACC expert consensus decision pathway on the role of nonstatin therapies for LDL-cholesterol lowering in the management of atherosclerotic cardiovascular disease risk: a report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2022. – V. 80. – P. 1366–1418. DOI: 10.1016/j.jacc.2022.07.006.
22. Handelsman Y. et al. Consensus statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease algorithm – 2020 executive summary // *Endocr. Pract.* – 2020. – V. 26. – No 10. – P. 1196–1224. DOI: 10.4158/CS-2020-0490.

23. Kronenberg F. et al. Lipoprotein(a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement // *Eur. Heart J.* – 2022. – V. 43. – No 39. – P. 3925–3946. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac361.
24. Koschinsky M.L. et al. A focused update to the 2019 NLA scientific statement on use of lipoprotein(a) in clinical practice // *J. Clin. Lipidol.* – 2024. – V. 18. – No 3. – P. 308–319. DOI: 10.1016/j.jacl.2024.03.001.
25. Wilson D.P. et al. Use of Lipoprotein(a) in clinical practice: A biomarker whose time has come. A scientific statement from the National Lipid Association // *J. Clin. Lipidol.* – 2019. – V. 13. – No 3. – P. 374–392. DOI: 10.1016/j.jacl.2019.04.010.
26. Reyes-Soffer G. et al. High lipoprotein(a): actionable strategies for risk assessment and mitigation // *Am. J. Prev. Cardiol.* – 2024. – V. 18. – P. 100651. DOI: 10.1016/j.ajpc.2024.100651.
27. Schwartz G.G. et al. Existing and emerging strategies to lower Lipoprotein(a) // *Atherosclerosis.* – 2022. – V. 349. – P. 110–122. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.04.020.
28. Кухарчук В.В. и др. Клинические рекомендации Евразийской ассоциации кардиологов (ЕАК)/ Национального общества по изучению атеросклероза (НОА, Россия) по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза (2020) // *Евразийский кардиологический журнал.* – 2020. – № 2. – С. 6–29. [Kukharchuk V.V. et al. Eurasian Association of Cardiology (EAC) / Russian National Atherosclerosis Society (RNAS) Guidelines for the diagnosis and correction of dyslipidemia for the prevention and treatment of atherosclerosis (2020) // *Eurasian Heart Journal.* – 2020. – No 2. – P. 6–29. In Russian]. DOI: 10.38109/2225-1685-2020-2-6-29.
29. Ezhov M.V. et al. Specific Lipoprotein(a) apheresis attenuates progression of carotid intima-media thickness in coronary heart disease patients with high lipoprotein(a) levels // *Atheroscler. Suppl.* – 2015. – V. 18. – P. 163–169. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.02.025.
30. Safarova M.S. et al. Effect of specific lipoprotein(a) apheresis on coronary atherosclerosis regression assessed by quantitative coronary angiography // *Atheroscler. Suppl.* – 2013. – V. 14. – No 1. – P. 93–99. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.10.015.
31. Коновалов Г.А. и др. Экстракорпоральные методы лечения рефрактерных дислипидемий // *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2010. – Т. 1 – № 1. – С. 37–48. [Konovalov G.A. et al. Extracorporeal treatment of Refractory dyslipidemia // *The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias.* – 2010. – V. 1 – No 1. – P. 37–48. In Russian].
32. Kronenberg F. Lipoprotein(a) measurement issues: Are we making a mountain out of a molehill? // *Atherosclerosis.* – 2022. – V. 349. – P. 123–135. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.04.008.
33. Heydari M. et al. The ins and outs of lipoprotein(a) assay methods // *Arch. Med. Sci. Atheroscler. Dis.* – 2023. – V. 30. – No 8. – P. 128–139. DOI: 10.5114/amsad/176653.
34. Gonen A. et al. Generation and characterization of LPA-KIV9, a murine monoclonal antibody binding a single site on apolipoprotein (a) // *J. Lipid. Res.* – 2020. – V. 61. – No 9. – P. 1263–1270. DOI: 10.1194/jlr.RA120000830.
35. Yeang C. et al. Novel method for quantification of lipoprotein(a)-cholesterol: implications for improving accuracy of LDL-C measurements // *J. Lipid. Res.* – 2021. – V. 62. – P. 100053. DOI: 10.1016/j.jlr.2021.100053.
36. Lackner C. et al. Molecular basis of apolipoprotein (a) isoform size heterogeneity as revealed by pulsed-field gel electrophoresis // *J. Clin. Invest.* – 1991. – V. 87. – No 6. – P. 2153–2161. DOI: 10.1172/JCI115248.
37. Chan D.C. et al. Lipoprotein(a) particle production as a determinant of plasma lipoprotein(a) concentration across varying apolipoprotein(a) isoform sizes and background cholesterol-lowering therapy // *J. Am. Heart Assoc.* – 2019. – V. 8. – No 7. – P. 011781. DOI: 10.1161/JAHA.118.011781.
38. Marcovina S.M. et al. Use of a reference material proposed by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine to evaluate analytical methods for the determination of plasma lipoprotein(a) // *Clin. Chem.* – 2000. – V. 46. – No 12. – P. 1956–1967.
39. Tate J.R. et al. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) standardization project for the measurement of lipoprotein(a). Phase 2: selection and properties of a proposed secondary reference material for lipoprotein(a) // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 1999. – V. 37. – No 10. – P. 949–958. DOI: 10.1515/CCLM.1999.140.
40. Cobbaert C.M. et al. Towards an SI-traceable reference measurement system for seven serum apolipoproteins using bottom-up quantitative proteomics: conceptual approach enabled by cross-disciplinary/cross-sector collaboration // *Clin. Chem.* – 2021. – V. 67. – No 3. – P. 478–489. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa239. PMID: 33331636.
41. Marcovina S.M. et al. Development and validation of an isoform-independent monoclonal antibody-based ELISA for measurement of lipoprotein(a) // *J. Lipid. Res.* – 2022. – V. 63. – No 8. – P. 100239. DOI: 10.1016/j.jlr.2022.100239.
42. Scharnagl H. et al. Comparison of lipoprotein (a) serum concentrations measured by six commercially available immunoassays // *Atherosclerosis.* – 2019. – V. 289. – P. 206–213. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.015.
43. Wyness S.P. et al. Performance evaluation of five lipoprotein(a) immunoassays on the Roche cobas c501 chemistry analyzer // *Pract. Lab. Med.* – 2021. – V. 25. – P. 00218. DOI: 10.1016/j.plabm.2021.e00218.
44. Tsimikas S. et al. Relationship of lipoprotein(a) molar concentrations and mass according to lipoprotein(a) thresholds and apolipoprotein(a) isoform size // *J. Clin. Lipidol.* – 2018. – V. 12. – No 5. – P. 1313–1323. DOI: 10.1016/j.jacl.2018.07.003.
45. Marcovina S.M. et al. Development of an LC-MS/MS proposed candidate reference method for the standardization of analytical methods to measure lipoprotein(a) // *Clin. Chem.* – 2021. – V. 67. – No 3. – P. 490–499. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa324.