proLékaře.cz | 25.11.2024

Měření koncentrace lipoproteinu(a): co a jak měříme a kudy dál?

Measuring lipoprotein(a) concentrations: what and how do we measure and where do we go from here?

Vladimír Soška[1,2], **Ondřej Kyselák**[1,3]

[1]Oddělení klinické biochemie FN U sv. Anny v Brně
[2]II. interní klinika LF MU a FN U sv. Anny v Brně
[3]Katedra laboratorních metod LF MU, Brno

✉ **prof. MUDr. Vladimír Soška, CSc.** | vladimir.soska@fnusa.cz | www.fnusa.cz

Doručeno do redakce | Doručené do redakcie | Received 30. 8. 2023
Přijato po recenzi | Prijaté po recenzii | Accepted 30. 9. 2023

Abstrakt
Lipoprotein(a) je atypický lipoprotein, jehož hladina v krvi je geneticky determinována. Dle současných znalostí je samostatným nezávislým rizikovým faktorem pro aterosklerotická kardiovaskulární onemocnění a pro aortální valvulární stenózu. V současné době není k dispozici specifická terapie ke snížení jeho koncentrace v krvi, ale v pokročilé fázi klinických studií jsou nadějné preparáty na principu RNA-interference. Management pacientů s vysokou hladinou Lp(a) bude vyžadovat, aby byla k dispozici spolehlivá metoda měření jeho koncentrace v krvi. V současné době používané metody, které měří koncentraci Lp(a) v hmotnostních jednotkách, nemohou být spolehlivé především pro velmi vysokou variabilitu částice Lp(a). Pro zkvalitnění diagnostiky je nutná standardizace měření s přechodem na měření molární koncentrace Lp(a) s návazností na vhodný mezinárodní standard.

Klíčová slova: apolipoprotein(a) – LDL-cholesterol – lipoprotein(a) – standardizace měření

Abstract
Lipoprotein(a) is an atypical lipoprotein whose level in the blood is genetically determined. According to current knowledge, it is an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease and for aortic valvular stenosis. Currently, there is no specific therapy available to reduce its blood concentration, but RNA-interference-based therapy is in advanced clinical trials. The management of patients with high Lp(a) levels will require that a reliable method of measuring its concentration in the blood is available. Currently used methods that measure Lp(a) concentration in mass units cannot be reliable, mainly because of the very high variability of the Lp(a) particle. To improve the quality of diagnosis, standardization of measurements with a transition to measuring the molar concentration of Lp(a) and with a follow-up to a suitable international standard is necessary.

Key words: apolipoprotein(a) – LDL-cholesterol – lipoprotein(a) – measurement standardization

Úvod

Lipoprotein(a), dále jen Lp(a), je atypický lipoprotein, kterému je v posledních letech věnována zvýšená pozornost pro jeho účast v patogenezi aterosklerózy a aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění (ASKVO). Lp(a) je komplexem bílkoviny apolipoproteinu(a) a kompletní částice lipoproteinu LDL. V souhrnné publikaci z roku 2022 [1] je konstatováno, že zvýšená koncentrace Lp(a) je nezávislým rizikovým faktorem pro ASKVO a pro aortální valvulární stenózu. Protože jeho koncentrace v krvi je determinována z velké části geneticky a protože v současnosti není k dispozici specifická terapie, která by koncentraci Lp(a) snížila, je doporučeno změřit jeho koncentraci u dospělých osob 1krát za život. To se ale pravděpodobně v relativně krátkém výhledu změní, protože v pokročilých fázích klinických studií jsou preparáty na principu RNA-interference, které snižují kon-

proLékaře.cz | 25.11.2024

centraci Lp(a) až o 90 %. A to je také důvodem, proč je na Lp(a) upírána zvýšená pozornost klinických lékařů i farmaceutických firem. Nicméně k tomu, aby bylo možné stanovit jasná pravidla pro interpretaci výsledků měření koncentrace Lp(a) v krvi pro nasazení specifické terapie, sledování jejího účinku a stanovení cílových hodnot je nutné, aby existovala spolehlivá laboratorní metoda měření koncentrace Lp(a) v krvi. Měření koncentrace Lp(a) je ale velmi problematické: neexistuje standardizace, existuje více metod jeho stanovení, které nejsou navzájem srovnatelné a existují 2 způsoby vyjadřování výsledků měření, které nelze navzájem přepočítat.

Genetika Lp(a)

Lp(a) byl objeven v roce 1963 genetikem Kare Bergem, který se snažil definovat rozdíly v lipoproteinech lidských sér pomocí souboru imunologických vyšetření. Tehdy objevil nový antigen, který byl navázán na lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) [2]. Konstatoval, že tento nový antigen je geneticky determinován a navrhl jeho název „lipoprotein (a)“, přičemž malé „a“ v závorce dle tehdejší terminologie bylo označením pro antigen. Název lipoprotein(a) tedy říkal že jde o nějaký antigen, navázaný na LDL. Oním antigenem je bílkovina apolipoprotein(a) – dále v textu jen apo(a). Následné sekvenování a klonování genu pro apo(a) ukázalo, že tento gen se vyvinul z genu pro plazminogen, že obsahuje několik tzv. kringl domén běžných u koagulačních faktorů a dále mutovanou proteázovou doménu, která postrádá proteolytickou aktivitu plazminu [3]. Tyto analýzy přinesly nové poznatky o složitosti genetiky Lp(a), které mimo jiné pomohly vysvětlit, proč jsou u lidí takové zásadní interindividuální rozdíly v hladinách Lp(a) v plazmě. Ukázalo se, že mezi různými kringly odvozenými od genu pro plazminogen se během vývoje dalšími mutacemi rozšířil a diverzifikoval kringl IV (KIV) do 10 různých typů, označovaných jako KIV1–10, a dále že jeden z nich, typ KIV-2, se může multiplikovat u různých osob do různého počtu kopií. Počet repeticí KIV-2 může kolísat od pouhých 3 až po více než 40 kopií. Pro syntézu jakéhokoliv peptidu/proteinu máme ale vždy dvě alely (od každého z rodičů jednu), a máme tedy i dvě různé alely pro syntézu apo(a). A protože jen málo jedinců má obě alely totožné (homozygotní forma), bylo prokázáno, že více než 95 % populace jsou heterozygoti co se týče variací v počtu kopií KIV-2. Výsledkem výše uvedených faktů je skutečnost, že je u různých osob nejen různá délka řetězce apo(a)-proteinu (různý počet KIV-2), ale že navíc většina z nás vytváří dva různě dlouhé řetězce apo(a) o odlišném počtu KVI-2 [4]. Do problematiky heterogenity apo(a) vstupuje ještě další faktor, kterým je individuální glykosylace jednotlivých kringlů: molekulární hmotnost řetězce apo(a) se tak zvyšuje v závislosti na intenzitě glykosylace jeho kringlů [5]. Protein apo(a) není z výše uvedených důvodů z hlediska složení jednoznačně definovaná substance a je velmi variabilní, což má dopad nejen do problematiky měření koncentrace Lp(a), ale i do kliniky: alela apo(a) s malou variabilitou počtu kopií vede k syntéze apo(a) s kratším řetězcem za vzniku Lp(a), který je asociován s vysokými koncentracemi Lp(a) v plazmě. Naopak alela apo(a) s vysokou variabilitou počtu kopií apo(a) vede k apo(a) s dlouhým řetězcem apo(a) za vzniku Lp(a), který je asociován s nižšími plazmatickými hladinami Lp(a). Na malé populaci bylo tehdy také prokázáno, že variabilita KIV-2 predikuje nejen hladiny Lp(a), ale i riziko ASKVO [6].

Lp(a) jako komplex apo(a) a lipoproteinu LDL

Apo(a), syntetizovaný v hepatocytech, se váže pomocí disulfidického můstku svým kringlem KIV9 na řetězec apolipoproteinu B částice lipoproteinu LDL, za vzniku kompletní částice Lp(a) [7,8]. LDL jsou produktem degradace VLDL (lipoproteiny o velmi nízké denzitě) v krvi a jejich složení a velikost LDL je také variabilní. Jejich variabilita se týká jak velikosti (malé, střední, velké LDL), tak i jejího složení (obsahu cholesterolu, triglyceridů, fosfolipidů). Výsledkem vazby variabilního řetězce apo(a) na variabilní částici LDL je skutečnost, že Lp(a) jako celek je extrémně variabilní entita z hlediska velikosti, hmotnosti a složení u různých jedinců i v rámci jednoho jedince. To je také hlavní příčinou problémů se stanovením koncentrace Lp(a) v krvi.

Měření koncentrace Lp(a) v krvi

Poznámka úvodem: Následující text je značným zjednodušením problematiky analytické chemie a biochemie jak z hlediska definice a výkladu jednotlivých pojmů, tak i fyzikálně-chemických principů a postupů při zjišťování koncentrace analytů v krvi. Cílem textu je vysvětlit, jaké problémy přináší měření koncentrace Lp(a).

Laboratorní principy a aspekty měření koncentrace látek v krvi

Koncentrace látek v krvi je v klinické biochemii vyjadřována nejčastěji v látkových (molárních) jednotkách, nebo v hmotnostních jednotkách (v případě enzymů formou jejich katalytické aktivity).

Hmotnostní koncentrace vyjadřuje (zjednodušeně) hmotnost měřené látky v jednotkovém objemu krve. Nejčastěji používanou jednotkou je gram/litr (g/l) a z ní dále odvozené menší jednotky (mg/l, µg/l). V anglosaské literatuře pak stále přežívá obsoletní jednotka mg/dl. Je logické, že měříme-li „hmotnost“ nějaké substance v objemu krve, musíme znát „hmotnost“ měřených částic (molekulární hmotnost), a že „hmotnost“ stanovované látky musí být jasně definovaná její chemickou strukturou a musí být neměnná napříč populací. To platí u běžně stanovovaných analytů (glukóza, močovina, hormony, léky), nikoliv ale u Lp(a).

Látková (molární) koncentrace udává látkové množství (zjednodušeně řečeno počet částic měřené látky) v jednotkovém objemu krve. Nejčastěji používanou jednotkou je mmol/l a z ní dále odvozené menší jednotky (µmol/l, nmol/l). A protože **mol** je 1 ze 7 základních jednotek soustavy SI, mělo by být používání molární koncentrace používáno preferenčně před hmotnostními jednotkami na předpokladu, že to charakter měřené látky dovoluje.

proLékaře.cz | 25.11.2024

Princip imunochemických měření

Měření koncentrace Lp(a) v klinických laboratořích se provádí většinou imunochemickou analýzou. Principem imunochemických stanovení koncentrace nějakého antigenu v krvi – hormon, nádorový marker, peptid, apo(a) – je v obecné rovině jeho vazba na specifickou protilátku obsaženou v diagnostické soupravě. Protilátka v diagnostické soupravě musí být specifická vůči stanovovanému antigenu, v případě měření Lp(a) je antigenem apo(a), a velmi důležitý je výběr místa na povrchu stanovovaného antigenu, na které se protilátka váže (jeho dostupnost, specificita apod). Protilátka v soupravě musí být nějakým způsobem „označena", aby následně vzniklé komplexy antigen-protilátka mohly být detekovány (např. barevnou reakcí, zákalem, chemiluminiscencí) a aby tak bylo možné kvantifikovat množství vzniklých komplexů antigen-protilátka, které je úměrné množství měřeného antigenu v krvi. V případě Lp(a) je nejčastěji používána imunoturbidimetrie, při které je měřena intenzita zákalu způsobeného vznikajícími komplexy antigen-protilátka. Pro zvýšení citlivosti reakce bývají protilátky proti apo(a) vázány na latexové částice. Jedním z dalších předpokladů kvantifikace výsledku měření je existence nějakého referenčního materiálu/standardu (čistého a chemicky jednoznačně definovaného antigenu který měříme), jehož přesně dané množství je „rozpuštěno" v přesně daném objemu roztoku. Pro měření je dále třeba mít k disposici kalibrátory, což je většinou řada vzorků roztoku tohoto antigenu o známé stoupající koncentraci, ke konstrukci tzv. kalibrační křivky. Z té pak lze při odečíst (ze síly naměřeného signálu) koncentraci měřeného antigenu ve vyšetřovaném vzorku krve.

Měření koncentrace Lp(a) v kontextu výše uvedených informací

Měření Lp(a) v hmotnostních jednotkách (mg/l, mg/dl): tento způsob zatím používá většina firem, dodávajících diagnostické soupravy pro stanovení Lp(a). Hlavní problémy při tomto způsobu stanovení jsou následující:

- Vysoká interindividuální heterogenita částic Lp(a), která je dána délkou řetězce apo(a): interindividuální i intraindividuální variabilita v počtu KIV-2, individuální intenzitou glykosylace kringlů a současně velikostí a složením částice LDL (individuální obsah cholesterolu, fosfolipidů a triglyceridů). Hmotnost částice Lp(a) je dána součtem hmotnosti řetězce apo(a) + hmotnosti částice LDL a kolísá mezi 300–800 kDa [5,9]. Neznáme-li ale „hmotnost" částice Lp(a) u konkrétní osoby, lze jen těžko přesně stanovit „hmotnost" těchto částic v litru či decilitru krve. Lze proto předpokládat, že pro výpočet koncentrace Lp(a) v soupravách, které stanovují koncentraci v hmotnostních jednotkách, využívají výrobce diagnostických souprav nějakou aproximaci na „průměrnou" nebo „nejčastější" hmotnost částice Lp(a) v populaci, a to v návaznosti na kalibrátory výrobce příslušné diagnostické soupravy.
- Vysoká variabilita v počtu repeticí kringlů IV-2 v řetězci apo(a) je problémem i při výrobě protilátky pro stanovení Lp(a) v diagnostické soupravě. Většina výrobců souprav pro stanovení v hmotnostních jednotkách používá polyklonální protilátky proti apo(a). Ty mohou rozeznávat různé epitopy řetězce apo(a) a mohou se vázat i na více míst na repetice kringlů IV-2 [10]. V případě velkého počtu repeticí, tedy velké izoformy apo(a), tak většinou tyto soupravy nadhodnocují výsledky, a naopak v případě malého počtu repeticí KIV-2, tedy malé izoformy Lp(a), výsledky podhodnocují. A protože u osob s vysokou koncentrací Lp(a) bývají většinou přítomny malé izoformy Lp(a), je podhodnocení výsledku daleko větší u osob s vysokou koncentrací Lp(a) než u osob s nízkou koncentrací Lp(a). To může vést k výraznému podhodnocení rizika ASKVO u těchto osob [11–14].

Stanovení Lp(a) v látkové (molární) koncentraci. Tento způsob stanovení do značné míry eliminuje výše uvedené problémy. Soupravy pro toto stanovení používají monoklonální protilátku s vysokou specifitou pro tu část řetězce apo(a), která se neopakuje, např. proti části KIV-9, nebo KV, ev. mohou být použity i 2 monoklonální protilátky pro 2 vysoce specifické epitopy apo(a). Tím je odstraněna variabilita výsledku měření, způsobená počtem repeticí kringlů IV-2. Tím, že je měřen počet částic Lp(a) a nikoliv jejich hmotnost, je odstraněn i problém daný heterogenitou částic Lp(a): v tomto případě zjišťujeme počet částic Lp(a) bez ohledu na jejich velikost, složení a hmotnost. Měření molární koncentrace Lp(a) pomocí výše uvedené monoklonální protilátky tak není ovlivněno izoformami Lp(a), počtem kringlů, jejich glykosylací, ani velikostí a složením LDL [14]. Nevýhodou stanovení koncentrace Lp(a) v nmol/l je to, že není zohledněna velikost částice Lp(a). Je známé, že aterogenita částic Lp(a) závisí nejen na jejich počtu, ale i velikosti [1].

Standardizace měření Lp(a): problémem je především získání základního „standardu" („standardní" částice Lp(a) o přesně definovaném složení), od něhož se budou odvíjet sekundární navázané standardy výrobců souprav. Získání standardu je jednoduché u analytů se známou a jednoznačnou molekulární strukturou a hmotností, stejnou napříč populací (glukóza, močovina). Pro měření koncentrace Lp(a) v molárních jednotkách by to mohl být rekombinantní apo(a) – vyvíjený standard ve formě rekombinantního apo(a) se 14 KIV a přesně definovaným složením [15]. Na takovýto „mezinárodní standard" pro Lp(a) lze navázat sekundární standardy výrobců jednotlivých souprav pro stanovení Lp(a) v molárních jednotkách a dosáhnout toho, že měření jednoho vzorku krve v různých laboratořích i při použití souprav různých výrobců bude srovnatelné a s přijatelnou chybou. V současné době nelze výsledky měření stejného vzorku z různých laboratořích (především v hmotnostních koncentracích) mezi sebou porovnávat. Bias (systematická chyba) se např. při porovnání 6 komerčních souprav pohybovala od -25 do + 35 % [16], v jednotlivých případech konkrétního měření ale mohou být rozdíly mezi jednotlivými měřeními různými soupravami mnohem větší [5].

proLékaře.cz | 25.11.2024

Doporučení pro měření a interpretaci výsledků měření koncentrace Lp(a)

Protože vztah mezi nárůstem koncentrace Lp(a) a nárůstem rizika ASKVO je lineární a protože měření koncentrace Lp(a) není standardizováno, není pro hodnocení výsledků vhodné uvádět jednoznačné cut-off hodnoty, ale zavést do interpretace tzv. šedou zónu (tab). Výsledky v rozmezí šedé zóny mají být interpretovány opatrně a individuálně v kontextu přítomnosti/nepřítomnosti ostatních rizikových faktorů. Pro správnou interpretaci výsledků by bylo také vhodné, aby laboratoře poskytovaly informace o typu (názvu) použité diagnostické soupravy [1]. Doporučeno je měření koncentrace Lp(a) v molárních jednotkách diagnostickými soupravami, které používají monoklonální protilátky necitlivé k izoformám apo(a) a které jsou navázány na vhodný referenční materiál. Problematikou získání optimálního referenčního materiálu se zabývají pracovní skupiny pro standardizaci měření Lp(a) [15,17].

Přepočet výsledků měření mezi hmotnostními a molárními jednotkami

Přepočet mezi hmotnostními a molárními jednotkami je možný u těch analytů, u kterých je napříč populací jednoznačně dána jejich neměnná molekulová hmotnost (např. glukóza, kreatinin aj). To ale neplatí pro Lp(a), který má vysokou interindividuální i intraindividuální variabilitu složení a hmotnosti. A pokud nevíme, jaká je molekulární hmotnost částic Lp(a) u konkrétního pacienta, nelze přepočíst počet částic (molární koncentrace) na jejich celkovou hmotnost (hmotnostní koncentrace) a naopak. Přepočet proto není doporučeno provádět [1].

Korekce koncentrace LDL-C na Lp(a)

Součástí Lp(a) je částice lipoproteinu LDL, která vždy obsahuje cholesterol. Když změříme nebo vypočteme koncentraci LDL-C, je ve výsledné hodnotě zahrnut i cholesterol nesený v Lp(a). Lp(a) tedy nadhodnocuje koncentraci LDL-C. Čím vyšší je počet částic Lp(a), tím více je nadhodnocená změřená/vypočtená koncentrace LDL-C oproti skutečnosti. Vznikly proto návrhy korigovat koncentraci LDL-C na koncentraci Lp(a) – odpočet cholesterolu neseného v Lp(a) od změřené/vypočtené hladiny LDL-C. Návrh vycházel z předpokladu, že cholesterol tvoří asi 30–40 % hmotnosti částice Lp(a) [18,19] a výpočet předpokládal stanovení koncentraci Lp(a) i LDL-C v hmotnostních jednotkách, konkrétně v mg/dl. Pokud by teoreticky 30 % hmotnosti částice Lp(a) tvořil cholesterol, pak množství cholesterolu v Lp(a) v mg/dl vypočteme vynásobením koncentrace Lp(a) v mg/dl koeficientem 0,3. Potom by mělo platit, že LDL-C korigovaný na Lp(a) vypočteme tím, že od změřené/vypočtené koncentrace LDL-C v mg/dl odečteme vypočtené množství cholesterolu v Lp(a) v mg/dl. Podrobnější analýzy ale prokázaly, že obsah cholesterolu v Lp(a) kolísá v mnohem širším rozmezí od 6 % do 60 % hmotnostních jednotek [20]. To může souviset s tím, že na hmotnosti částice Lp(a) se významně podílí hmotnost řetězce apo(a), která ale kolísá ve velmi širokém rozmezí v závislosti na počtu repeticí KIV-2. Při vysokém počtu repeticí (např. 40) je částice Lp(a) těžší, většinu její „hmotnosti“ může tvořit velmi dlouhý řetězec apo(a) a na cholesterol „zbývá“ jen např. 10 %. Naopak při minimálním počtu repeticí KIV-2 je řetězec apo(a) krátký, takže cholesterol může tvořit většinu „hmotnosti“ částice Lp(a) a jeho obsah může tvořit např. 60 % celkové hmotnosti Lp(a). Korekce LDL-C na Lp(a) proto může být velmi zavádějící a není doporučeno ji provádět [1]. Výjimkou by snad mohli být pacienti s podezřením na familiární hypercholesterolemii (FH), kteří mají současně velmi vysokou koncentrací Lp(a) [1]. Hladina LDL-C je klíčovým parametrem pro diagnostiku FH a v oblasti rozhodovacích mezí (např. systémem Dutch Lipid Network Criteria nebo MedPed kritéria) vede nadhodnocení LDL-C u osob s vysokou hladinou Lp(a) k nesprávnému stanovení diagnózy FH: pacientův skutečný LDL-C je pod rozhodovací hladinou pro FH (pacient nemá FH), ale cholesterol v Lp(a) hladinu LDL-C falešně zvyšuje a pacientovi je diagnóza FH chybně přiřazena [21,22]. V konsenzu EAS k Lp(a) je uvedeno, že v tomto případě by bylo vhodné koncentraci LDL-C korigovat na Lp(a) a pracovat s takto vypočtenou koncentrací LDL-C [1]. Při použití tohoto postupu by mohlo být „reklasifikováno“ významné procento pacientů s diagnózou FH na osoby bez FH [23]. Nicméně pokud neexistuje spolehlivé měření koncentrace Lp(a), nevíme, jaký je obsah cholesterolu v Lp(a) u konkrétního pacienta a navíc není standardizováno ani měření LDL-C, je třeba považovat výpočet korigovaného LDL-C za velmi nespolehlivý a jen velmi hrubě orientační, nehledě na to, že přechod na měření Lp(a) v molární koncentraci výše uvedený výpočet neumožní provádět.

Tab. | Doporučení pro interpretaci výsledků měření koncentrace lipoproteinu(a) v krvi

	koncentrace [nmol/l]	koncentrace [mg/dl]
nízká hodnota	< 75	< 30
šedá zóna	75–125	30–50
zvýšená hodnota	> 125	> 50
velmi vysoká hodnota*	> 430	> 180

* Tato koncentrace Lp(a) sama o sobě (i bez přítomnosti dalších rizikových faktorů) řadí pacienta automaticky do kategorie vysokého rizika ASKVO (obdobně jako je tomu u heterozygotní formy familiární hypercholesterolemie).

Závěr

Lp(a) je považován za nezávislý rizikový faktor pro ASKVO a pro aortální valvulární stenózu [1]. V souvislosti s připravovanými léky na principu RNA-interference ke snížení Lp(a) je aktuálním problémem měření koncentrace Lp(a), které není standardizováno, výsledky měření jsou vydávány v různých jednotkách a výsledky z různých laboratoří měřené různými diagnostickými soupravami nejsou srovnatelné. Základní příčinou těchto problémů je především velká interindividuální i intraindividuální variabilita ve složení a velikosti Lp(a). Cestou ke standardizaci vyšetření je přechod

proLékaře.cz | 25.11.2024

na měření molární koncentrace Lp(a) s využitím monoklonálních protilátek proti neopakujícímu se epitopu na povrchu apo(a), a dále vytvoření mezinárodního standardu/referenčního materiálu.

Literatura

1. Kronenberg F, Mora S, Stroes ESG et al. Lipoprotein(a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement. Eur Heart J 2022; 43(39):3925–3946. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1093/eurheartj/ehac361>.

2. Berg K. A NEW SERUM TYPE SYSTEM IN MAN--THE LP SYSTEM. Acta Pathol Microbiol Scand 1963:59:369–82. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1111/j.1699–0463.1963.tb01808.x>.

3. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ et al. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. Nature 1987; 330(6144): 132–137. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1111/j.1699–0463.1963.tb01808.x>.

4. Koschinsky ML, Beisiegel U, Henne-Bruns D et al. Apolipoprotein(a) size heterogeneity is related to variable number of repeat sequences in its mRNA. Biochemistry 1990; 29(3): 640–644. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1021/bi00455a007>.

5. Ruhaak LR, Cobbaert CM. Quantifying apolipoprotein(a) in the era of proteoforms and precision medicine. Clin Chim Acta 2020; 511: 260–268. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/j.cca.2020.10.010>.

6. Kraft HG, Lingenhel A, Kochl S et al. Apolipoprotein(a) kringle IV repeat number predicts risk for coronary heart disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996; 16(6): 713–719. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1161/01.atv.16.6.713>.

7. Enkhmaa B, Petersen KS, Kris-Etherton PM et al. Diet and Lp(a): Does Dietary Change Modify Residual Cardiovascular Risk Conferred by Lp(a)? Nutrients 2020; 12(7). Dostupné z DOI: <https://doi: 10.3390/nu12072024>.

8. Boffa MB, Koschinsky ML. Oxidized phospholipids as a unifying theory for lipoprotein(a) and cardiovascular disease. Nat Rev Cardiol 2019; 16(5): 305–318. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1038/s41569–018–0153–2>.

9. McConnell JP, Guadagno PA, Dayspring TD et al. Lipoprotein(a) mass: a massively misunderstood metric. J Clin Lipidol 2014; 8(6): 550–553. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/j.jacl.2014.08.003>.

10. Marcovina SM, Albers JJ, Gabel B et al. Effect of the number of apolipoprotein(a) kringle 4 domains on immunochemical measurements of lipoprotein(a). Clin Chem 1995; 41(2): 246–255.

11. Cegla J, Neely RDG, France M et al. Corrigendum to „HEART UK consensus statement on Lipoprotein(a): A call to action" [Atherosclerosis 2019; 291: 62–70. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.011]. Atherosclerosis 2020; 296: 48. PMID: 32018073.

12. Marcovina SM, Albers JJ. Lipoprotein (a) measurements for clinical application. J Lipid Res 2016; 57(4): 526–537. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1194/jlr.R061648>.

13. Saleheen D, Haycock PC, Zhao W et al. Apolipoprotein(a) isoform size, lipoprotein(a) concentration, and coronary artery disease: a mendelian randomisation analysis. Lancet Diabetes Endocrinol 2017; 5(7): 524–533. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/S2213–8587(17)30088–8>.

14. Marcovina SM, Moriarty PM, Koschinsky ML et al. JCL roundtable-Lipoprotein(a): The emerging risk factor. J Clin Lipidol 2018; 12(6): 1335–1345. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/j.jacl.2018.11.003>.

15. Marcovina SM, Clouet-Foraison N, Koschinsky ML 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; 67(3): 490–499. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1093/clinchem/hvaa324>.

16. Scharnagl H, Stojakovic T, Dieplinger B et al. Comparison of lipoprotein (a) serum concentrations measured by six commercially available immunoassays. Atherosclerosis 2019; 289: 206–213. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.015>.

17. Cobbaert CM, Althaus H, Begcevic Brkovic I 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; 67(3): 478–489. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1093/clinchem/hvaa239>.

18. Kostner GM, Ibovnik A, Holzer H et al. Preparation of a stable fresh frozen primary lipoprotein[a] (Lp[a]) standard. J Lipid Res 1999; 40(12): 2255–2263. PMID: 10588951.

19. Demacker PN, Veerkamp MJ, Bredie SJ et al. Comparison of the measurement of lipids and lipoproteins versus assay of apolipoprotein B for estimation of coronary heart disease risk: a study in familial combined hyperlipidemia. Atherosclerosis 2000; 153(2): 483–490. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/s0021–9150(00)00432–9>.

20. Yeang C, Witztum JL, Tsimikas S. Novel method for quantification of lipoprotein(a)-cholesterol: implications for improving accuracy of LDL-C measurements. J Lipid Res 2021; 62: 100053. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/j.jlr.2021.100053>.

21. Langsted A, Kamstrup PR, Benn M et al. High lipoprotein(a) as a possible cause of clinical familial hypercholesterolaemia: a prospective cohort study. Lancet Diabetes Endocrinol 2016; 4(7): 577–587. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1016/S2213–8587(16)30042–0>.

22. Chan DC, Pang J, Hooper AJ et al. Effect of Lipoprotein(a) on the Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: Does It Make a Difference in the Clinic? Clin Chem 2019; 65(10): 1258–1266. Dostupné z DOI: <https://doi: 10.1373/clinchem.2019.306738>.

23. Hopewell JC, Parish S, Offer A et al. Impact of common genetic variation on response to simvastatin therapy among 18 705 participants in the Heart Protection Study. Eur Heart J 2013; 34(13): 982–992. Dostupné z DOI: <https://doi: doi: 10.1093/eurheartj/ehs344>.