

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Laboratorní ukazatele při extrakorporální eliminaci lipoproteinů
v dlouhodobé léčbě těžké familiární hypercholesterolemie**

Bakalářská práce

autor: Jana Chocholoušová

vedoucí práce: prof. MUDr. Milan Bláha, CSc.

Datum odevzdání:

Abstract

Laboratory markers in the process of extracorporeal elimination of lipoproteins in long-term treatment of severe familial hypercholesterolemia.

LDL-apheresis is a method of extracorporeal LDL-cholesterol elimination, which is known to decrease inflammatory processes of atherogenesis. The study is divided into two parts. THE AIM of the first part was to evaluate LDL-apheresis procedures based on immunoabsorption in 9 patients, 5 men and 4 women, (median age was 57, range 19-61 years), with severe familial hyperlipidemia (period 2004-2007). Immunoabsorption was performed by means of Cobe Spectra, ADA or Adasorb and columns of LDL-Lipopak. Before and immediately after the procedure, blood samples were taken and serum levels of lipoproteins and some other parameters were determined. The aim of the second part was to evaluate the effectiveness of rheopheresis method and compare it with LDL-apheresis. Procedures of rheopheresis were implemented in 4 patients, 3 men and 1 woman, median age was 51 (35 – 67) years. During this procedure Cobe-Spectra was used; plasma was then pumped into the secondary grade filters Evaflex. Before and immediately after the procedure, blood samples were taken and serum levels of lipoproteins and some other parameters were determined. Results: Median interval between two apheresis procedures was 17 (4 – 294) days; in homozygous familial hypercholesterolemia 14 days. Regressive analysis proved neither the decrease of effectiveness nor the decrease of selectivity of immunoabsorption depending on the number of performed procedures. The adverse effects were mostly mild and clinically insignificant, represented by manifestation of citrate related toxicity and vaso-vagal reactions. CONCLUSION: The modification of LDL-apheresis based on immunoabsorption is effective, selective and safe. From the long-term point of view, LDL-Lipopak columns are reliable types of adsorbents. It is recommended that LDL-apheresis procedures should not take more than four hours. In patients with familial hypercholesterolemia (if other possibilities failed (diet, change of life style, maximal tolerated doses of hypolipidemics) rheopheresis also proved to be an efficient and safe method.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Laboratorní ukazatele při extrakorporální eliminaci lipoproteinů v dlouhodobé léčbě těžké familiární hypercholesterolemie“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

Souhlasím s použitím práce k vědeckým účelům.

V Českých Budějovicích 1.2.2008

.....

Podpis studenta

Poděkování

Upřímné poděkování patří mému vedoucímu práce Prof. MUDr. Milanu Bláhovi, CSc. za jeho vstřícnost a podporu. Poděkování patří také všem, kteří jsou součástí této práce. V neposlední řadě mé rodině za stálou oporu a toleranci.

.....

OBSAH

ÚVOD	7
1. SOUČASNÝ STAV DANÉ PROBLEMATIKY.....	8
1.1. Porucha vychytávání LDL specifickými receptory.....	8
1.1.1. Familiární hypercholesterolémie	8
1.1.1.1. Definice familiární hypercholesterolémie.....	8
1.1.1.2. Diagnostika familiární hypercholesterolémie.....	9
1.1.1.3. Léčba familiární hypercholesterolémie.....	9
1.1.2. Heterozygotní forma familiární hypercholesterolémie.....	10
1.1.3. Homozygotní forma familiární hypercholesterolémie.....	10
1.2. Úloha cholesterolu v aterogenezi.....	11
1.2.1. Celkový cholesterol.....	11
1.2.2. Cholesterol a aterogeneze.....	11
1.2.3. Jednotlivé lipoproteiny a jejich součásti.....	12
1.2.3.1. Lipoprotein (a).....	12
1.2.3.2. LDL a HDL cholesterol.....	13
1.2.3.3. LDL receptor.....	13
1.3. Metody extrakorporální eliminace LDL cholesterolu.....	14
1.3.1. Léčebné techniky užívané v současnosti.....	14
1.3.2. Charakteristika metod extrakorporální eliminace LDL-cholesterolu ..	14
1.3.3. Srovnání nejčastěji užívaných metod	17
1.3.4. Historie LDL - aferézy a její současnost.....	18
1.3.5. Vedlejší účinky LDL-aferézy	19
1.3.6. Ukazatele ke sledování změn po výzkumných procedurách.....	20
2. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY.....	21
3. METODIKA	21
3.1. Soubor nemocných léčených LDL-aferézou a rheoferézou.....	21
3.1.2. Soubor nemocných léčených LDL-imunoadsorpcí nebo filtrační metodou.....	22

3.1.3. Soubor nemocných léčených rheoferézou	22
3.2. Sběr vzorků a jejich zpracování.....	23
3.3. Technické provedení LDL – aferézy.....	23
3.4. Rheoferetická léčba.....	29
4. VÝSLEDKY.....	30
4.1. Vyhodnocení základních technických parametrů při LDL - aferéze.....	30
4.1.1. Laboratorní ukazatele při eliminaci lipoproteinů	
LDL – aferézou.....	31
4.2. Vyhodnocení základních technických parametrů při rheoferéze.....	32
4.2.1. Pokles hladiny základních patogenetických činitelů.....	32
5. DISKUZE.....	34
5.1. Vyšetření markerů lipoperoxidace, jeho význam, metody a výsledky.....	39
5.2. Porovnání LDL – aferézy a rheoferézy.....	41
6. ZÁVĚR	44
6.1. Závěr k léčbě familiární hypercholesterolemie LDL – aferézou.....	44
6.2. Závěr k léčbě familiární hypercholesterolemie pomocí rheoferézy.....	44
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	46
8. KLÍČOVÁ SLOVA.....	56
9. PŘÍLOHY.....	56
9.1. Seznam tabulek.....	56
9.2. Seznam grafů	57
9.3. Seznam obrázků	58
9.4. Seznam zkratk	59
9.5. Přehled referenčních rozmezí potřebných klinicko–biochemických a hematologických vyšetření.....	61

ÚVOD

Onemocnění kardiovaskulárního systému jsou v naší republice nejčastější příčinou morbidity obyvatelstva a jsou příčinou přibližně poloviny všech úmrtí. V české republice je to více než 50 %. Protože nejčastější příčinou kardiovaskulárních onemocnění je ateroskleróza a její komplikace, je zapotřebí věnovat zvýšené úsilí prevenci tohoto onemocnění, a to jak primární, tak sekundární.

Metodou sloužící k extrakorporální eliminaci je LDL – aferéza a to u pacientů s velmi závažnou až život ohrožující hypercholesterolémií. Tato metoda se používá v tom případě, kdy nemoc je k farmakoterapii rezistentní a ani zavedení dietního režimu a změna životního stylu není účinná. Jedná se převážně o familiární hypercholesterolémii a familiární kombinovanou hyperlipoproteinémii, kdy nemocní trpí těžkými formami genetickými poruchy metabolismu lipidů. Metoda extrakorporální eliminace LDL cholesterolu je nutná jen zřídka.

U homozygotních pacientů se ischemická choroba srdeční vyskytuje již v dětství a často, při jejím neléčení, do 20. roku života vede ke smrti nemocného. Konzervativní léčba selhává a extrakorporální eliminace LDL cholesterolu je pro tyto pacienty život zachraňujícím postupem. U heterozygotní formy familiární hypercholesterolémie je dieta základem léčby, dále režimová opatření a medikamentózní terapie, která je účinná v 95 % případů. Léčba familiární kombinované hyperlipidémie spočívá v režimových a dietních opatřeních a farmakologické terapii.

1. SOUČASNÝ STAV DANÉ PROBLEMATIKY

V České republice je více než 50 % všech úmrtí způsobeno kardiovaskulárním onemocněním. Mezi rizikovými faktory arteriosklerózy má přední místo hyperlipoproteinémie. Incidence familiární hypercholesterolémie je 1 : 500 v heterozygotní formě. Současná léčba (změna životního stylu, dieta, kombinovaná farmakoterapie (96, 25), je velmi účinná (28). Jen malé procento (1 – 3 %) nereaguje dostatečně. Pak je nutná léčba extrakorporální eliminací. U homozygotů je tato léčba nutná (jako život zachraňující), avšak výskyt je 1 : 1 000 000 (88).

1.1. Porucha vychytávání LDL specifickými receptory

1.1.1. Familiární hypercholesterolémie

1.1.1.1. Definice familiární hypercholesterolémie

Jde o nejčastější geneticky (autozomálně dominantní) podmíněnou metabolickou odchylku a to přítomností mutací genu pro LDL receptor, který je normálně přítomen na povrchu jaterní buňky a zprostředkovává vychytávání LDL-cholesterolu z cirkulace (77, 78). Dosud je stanoveno 5 typů geneticky podmíněných odchylek ve struktuře či funkci LDL receptoru. LDL-cholesterol je „zlý“ cholesterol, který se ukládá ve stěně cév a významně přispívá k rozvoji aterosklerózy. Ateroskleróza se u postižených manifestuje časně, zpravidla mezi 35. a 60. rokem věku, ve formě ischemické choroby srdeční, infarktu myokardu, ischemické choroby dolních končetin nebo cévní mozkové příhody. V důsledku genetické odchylky je porušená funkce LDL receptoru a dochází ke hromadění LDL-cholesterolu v plazmě (3). U postižených jsou hladiny celkového i LDL-cholesterolu vždy výrazně zvýšeny, často jsou hodnoty celkového cholesterolu vyšší než 9 mmol/l. Cholesterol se může usazovat i v dalších tkáních ve formě xantelasmat víček, šlachových xantomů nebo bělavého proužku kolem oční duhovky. Familiární hypercholesterolémie se přenáší autosomálně dominantně, což znamená, že v případě postižení jednoho z rodičů je pravděpodobnost postižení dětí bez ohledu na jejich pohlaví 50%. Prevalence výskytu familiární hypercholesterolémie u heterozygotů je 1:500 v populaci (88), v České Republice je tedy postiženo cca 20 000 jedinců. Familiární hypercholesterolémie je onemocnění, které lze léčit!

Dietní a režimová opatření spolu s léky vedoucími ke snížení hladin cholesterolu v krvi významně snižují výskyt časných infarktů myokardu (71).

1.1.1.2. Diagnostika familiární hypercholesterolémie

Diagnostika familiární hypercholesterolémie byla až donedávna založena pouze na vyhodnocení klinických a biochemických známek onemocnění. I v současnosti jsou tato diagnostická kritéria důležitá. Nejspolehlivější je však diagnostika založená na analýze genotypu, tj. na určení konkrétního typu mutace v genu pro LDL receptor, která je za vznik poruchy odpovědná (63). Tato diagnostika bude do budoucna jistě velkým přínosem, protože umožňuje učinit správnou diagnózu včas a přesně.

Snížení množství LDL receptorů blokuje katabolismus LDL. Tím, že je zde velmi malé množství funkčních LDL receptorů, je zde zvýšená formace LDL v séru. V případě familiární hypercholesterolémie se tedy jedná o původ vzniku současně ve sníženém katabolismu i zvýšené produkci LDL cholesterolu.

1.1.1.3. Léčba familiární hypercholesterolémie

V posledních letech je stále více kladen důraz na primární i sekundární prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Zvýšený LDL-cholesterol je jedním z nejvýznamnějších rizikových faktorů aterosklerózy a jeho snížení se stalo základním opatřením k zamezení progresu a navození regrese postižení cév. U nemocných s těžkou familiární hypercholesterolemií může být dosažení cílových hladin LDL-cholesterolu obtížné až nemožné a LDL-aféze může být jediným život zachraňujícím postupem. Je to však metoda technicky, časově a finančně náročná. Procedury LDL-afézy je možné provádět pouze ve specializovaných centrech a je nutné je zpravidla celoživotně a pravidelně opakovat.

Pro ilustraci, v USA jsou podle *Food and Drug Administration* (FDA) indikováni k léčbě LDL-afézou homozygoti FH s hladinou LDL-cholesterolu >13 mmol/l, což v praxi splňují zpravidla všichni tito nemocní, dále heterozygoti FH s LDL-cholesterolem > 7,8 mmol/l bez ICHS nebo nad 5,2 mmol/l s ICHS (32). Kritéria jsou hodnocena až po šesti měsících přísné diety a maximální medikamentózní léčby.

Za alternativní kritérium pro léčbu LDL-aférou je někdy považováno selhání maximální tolerované medikamentózní léčby s cílem snížit cholesterol o více než 40%. V současné době jsou tendence ke snižování hranice cílového LDL-cholesterolu v primární i sekundární prevenci, které se odráží i na indikacích k LDL-aféře.

1.1.2. Heterozygotní forma familiární hypercholesterolémie

Pro familiární hypercholesterolémii jsou heterozygoti zachyceni screeningovým sledováním postižených rodin, dále vyšetřením screeningovým v rámci běžné populace nebo nemocní přicházejí kvůli projevujícím se klinickým obtížím ve 3.-4. dekádě svého života. Co se týče klinických projevů, které patří k nejméně závažným komplikacím, jedná se o manifestaci aterosklerózy. Jsou patrné xantomy (50). Ty vznikají v typických oblastech Achillových šlach, v oblasti šlach loketního kloubu a na dorzu rukou. Heterozygoti s familiární hypercholesterolémií jsou též vystaveni vysokému riziku rozvoje aterosklerózy s koronárním syndromem, akutními poruchami perfúze či ischemií mozku. Frekvence tohoto rizika je v literatuře udávána cca na 5 % ve 30-ti letech. Toto riziko ve 40-ti letech stoupá na 20 %, dále o 30 % (tedy na 50 %) v 50-ti letech až na 75 % (69). U heterozygotů se hodnoty hladin LDL cholesterolu obvykle pohybují nad koncentrací 3,9 mmol/l u dospělých a 3,3 mmol/l u dětí, přitom hladiny triacylglycerolů zůstávají v normě či jsou jen mírně zvýšeny.

1.1.3. Homozygotní forma familiární hypercholesterolémie

Velmi vzácná, a to s prevalencí 1 : 1 000 000, je homozygotní forma familiární hypercholesterolémie. Ta je charakterizována klinickou manifestací již zmíněných příznaků a to v časném věku a hladina LDL cholesterolu pohybující se mezi 12 až 25 mmol/l. Již při narození se začínají objevovat xantomy, či se tvoří do druhého věku dítěte. Ateroskleróza působí vážné změny v krevním řečišti během 10. – 20. roku života. Na základě stupně zvýšené hladiny LDL cholesterolu společně s vyloučením

jiných příčin laboratorních změn, by měla být stanovena diagnóza. Definitivní diagnózu určí funkční a genetické testy. (Např. pomocí monoklonálních protilátek lze stanovit aktivitu LDL receptoru periferních mononukleárů a to pomocí průtokové cytometrie.)

Familiární hypercholesterolémie je autosomálně dominantně dědičná choroba (36). Neúplně dominantní choroba postihuje heterozygoty i dominantní homozygoty, ovšem dominantní homozygoty mnohem hůře. Pokud teoreticky (ale i v praxi) uvažujeme "nemocného" jedince - myslíme tím ve většině případů heterozygota. Nemocní - homozygoti jsou vzácní - znamená to, že oba rodiče museli trpět stejnou dědičnou chorobou (a i potom je jen 25% pravděpodobnost, že se jim narodí dominantní homozygot) (74). Velká většina dominantně dědičných chorob je ve skutečnosti neúplně dominantních. Úplně dominantních genetických chorob (kde heterozygot i dominantní homozygot jsou postiženi stejně) je relativně málo.

1.2. Úloha cholesterolu v aterogenezi

1.2.1. Celkový cholesterol

Celkový cholesterol je jedním z nejznámějších a zároveň z nejzávažnějších rizikových faktorů rozvoje aterosklerózy (29). Jeho hladina v séru osob středního věku by se měla pohybovat v rozmezí 3,5 až 5,2 mmol/l.

Přesto, že zvýšený cholesterol je spojen s aterosklerózou, která je nesporným zdravotním i společenským problémem, jde o molekulu s unikátními chemickými a fyzikálními vlastnostmi (56, 100). Deficit cholesterolu a jeho prekurzorů u nemocných v kritickém stavu je závažnou poruchou, kterou je třeba včas diagnostikovat.

1.2.2. Cholesterol a aterogeneze

Vysoká hladina cholesterolu je známým rizikovým faktorem aterosklerózy (28). Cholesterol je v cirkulaci přenášen ve formě lipoproteinů (35). Dva nejvýznamnější lipoproteiny transportující cholesterol jsou LDL a HDL. Ve formě LDL je asi 70 % cholesterolu (27). Aterosklerotické léze vznikají jako tukové proužky osídlením subendoteliálních partií velkých artérií makrofágy, fagocytujícími LDL-cholesterol (86). Spouštěcím faktorem, vedoucím k akumulaci LDL-cholesterolu ve stěně cév, je

jeho oxidativní modifikace (97). Nativní LDL-částice téměř neindukují in vitro změny související s aterosklerózou (83, 85). Podstatou oxidativní modifikace je změna chemické struktury apolipoproteinu B, skýtající LDL-částici četné proinflamatorní, protrombotické a aterogenní vlastnosti (52, 54). Příkladem je aktivační vliv na mnohé monocytární funkce, od stimulace jejich chemotaxe, produkce cytokinů, adheze k endotelu, proliferace, schopnosti fagocytovat, až po indukci jejich apoptózy (51, 102). Modifikované LDL-částice vedou k uvolnění tkáňového faktoru a stimulují agregaci destiček, vazbou na C-reaktivní protein (CRP) aktivují komplement (88, 40, 29). Tvorbou nových epitopů aktivují buněčnou i humorální imunitu. Naopak aktivované makrofágy přispívají k oxidativní modifikaci LDL-cholesterolu, který po té přednostně reaguje s tzv. „scavenger“ receptory makrofágů, formujících pěnové buňky (59).

1.2.3. Jednotlivé lipoproteiny a jejich součásti

Lipidy jakožto látky ve vodě nerozpustně jsou v plazmě, tedy ve vodném prostředí transportovány pomocí vazby na bílkoviny (95). Takto vzniklé částice se nazývají lipoproteiny. Jejich struktura se dá popsat takto: jádro částice tvoří nepolární triacylglyceroly a esterifikovaný cholesterol, zatímco na povrchu nacházíme více polární lipidy – volný cholesterol a zejména fosfolipidy – a bílkoviny, zvané apolipoproteiny (apoproteiny).

Tabulka 1: Přehled lipoproteinů (zdroj: vlastní výzkum)

Charakteristika	LDL	HDL	VLDL	IDL
Hustota (g/l)	1063	méně než 1210	1006	1019
Průměrná velikost (nm)	220	70 až 100	280 až 750	315
Obsah cholesterolu (%)	59	38 až 43	17	41
Obsah proteinů (%)	25	40 až 55	10	18
Obsah triacylglycerolů (%)	7	6 až 7	56	32

1.2.3.1. Lipoprotein (a)

Lipoprotein (a) a LDL – cholesterol mají podobné složení (88). V bílkovinné složce Lp(a) je vedle apoB100 obsažen ještě silně glykovaný apo(a), který je kódován genem na 6. chromozomu, jenž je uložen v bezprostřední blízkosti genu pro plazminogen. Apo(a) a plazminogen mají podobné složení.

Lp(a) je považován za významný a nezávislý rizikový faktor komplikací předčasné aterosklerózy, mechanismus jeho aterogeneze však není zcela objasněn (70). Předpokládá se, že díky podobnosti apo(a) a plazminogenu, může Lp(a) blokovat plazminové receptory a tak snižovat aktivitu fibrinolytického systému ve stěně cév.

Katabolizmus Lp(a) není zcela objasněn, ale zdá se pravděpodobné jeho odstraňování z plazmy prostřednictvím LDL receptorů a scavengerových receptorů makrofágů, také cestou specifických Lp(a) receptorů makrofágů (6). Vysoký titr Lp(a) nebývá provázen somatickými změnami jako jsou xantomy či xantelezmata (88). Lp(a) je možné ho stanovit i kvantitativně (immunoassay).

1.2.3.2. LDL a HDL cholesterol

Důležitá není ani tak celková hladina cholesterolu, jako poměr HDL a LDL. Vžilo se velmi zjednodušené rozlišení na dobrý (HDL) a zlý (LDL) cholesterol. Lipoproteiny LDL přinášejí cholesterol k orgánům, které ho potřebují. V případě, že není oxidován, je relativně neškodný, ale škodlivé volné radikály molekuly cholesterolu okysličují a pak je vysoce rizikový. Proto je nutné zařadit do stravy ochranné antioxidanty působící proti volným radikálům. Lipoproteiny HDL cholesterol zase odnášejí, a to i z cév postižených už aterosklerózou.

1.2.3.3. LDL receptor

LDL – receptor je membránová bílkovina o 839 aminokyselinách. Jeho tvorbu podporují např. estrogeny. Je známo již více než 400 různých mutací lidského receptorového genu.

Nejčastějšími defekty jsou:

- nedostatečné syntéza genu

- vážne jeho prenos do Golgiho aparátu
- syntéza receptorů je normální, ale ty se neumí zachytit na správné místo, tj. být funkční.

Jinou příčinou může být defekt apolipoproteinu B – 100, který se pak na neporušený receptor nemůže vázat.

Mutaci lze prokázat PCR (polymerázovou řetězovou reakcí). Analytika DNA pro poznání familiární hyperlipoproteinémie není dosud běžná, ale lze předpokládat, že dojde k jejímu postupnému rozšíření na více pracovišť.

Terapie onemocnění je obtížná. Dieta pomáhá z 95-ti %, a pro zbylou část pacientů se jako nejúčinnější jeví LDL – aferéza.

1.3. Metody extrakorporální eliminace LDL cholesterolu

1.3.1. Léčebné techniky užívané v současnosti

V současnosti je možné snížit hodnoty cholesterolu v séru několika technicky odlišnými metodami (12, 13). Vůči substanci jsou jednotlivé techniky svou povahou nesespecifické, selektivní nebo specifické. U nesespecifických metod jde o to, že mimo požadovaného odstranění substrátu (v tomto případě LDL cholesterolu) jsou z plazmy eliminovány i jiné složky v ní obsažené (48, 53). Naproti tomu specifické techniky jsou takové, které se cíleně zaměřují na odstranění požadovaného substrátu z plazmy. Míra specifity je sounáležitá k použité technice (31). Název LDL aferéza byl poprvé použit profesorem Borbergem (14). Toto pojmenování bylo užito jako pojmenování pro specifickou eliminaci LDL cholesterolu na podkladě imunoabsorbce. V České Republice jsou selektivní metody extrakorporální eliminace LDL cholesterolu v současnosti prováděny jen na pracovišti v HK. Okruh nemocných je velmi omezený a detaily této problematiky se týkají relativně úzkého okruhu odborníků. Vzhledem k tomuto, nemají některé metody u nás zavedený název. Níže jsou uvedeny jednotlivé techniky, které ovlivňují aterogenezi a metabolismus lipidů (33).

1.3.2. Charakteristika metod extrakorporální eliminace LDL-cholesterolu

Plasmaferéza - Je starší a dobře známou metodou extrakorporální eliminace používanou v hematologii. Jedná se o metodu, kde dochází k léčebné výměně plazmy. Tato technika je nespecifická a neselektivní. V principu spočívá v odstranění téměř všech proteinů plasmy včetně LDL cholesterolu. Metodu popsal De Gennes v Paříži roku 1967 a později Tompsonem v Londýně roku 1977 (30, 41). Krev je brána z jedné z periferních vén, plasma je separována centrifugací či filtrací a odstraněna. Je nahrazena náhradní tekutinou, která obsahuje krystaloidy, koloidy a plasmou dárce. Plasmaferéza byla první metodou užitou k extrakorporální eliminaci cholesterolu. Neselektivita eliminace je její nevýhodou, ale stala se začátkem vývoje selektivních metod. Ty jsou, až na výjimky, založeny na dalším zpracování předem oddělené plasmy. Dlouhodobé používání plasmaferézy není potřebné (10) s ohledem na potenciální vedlejší účinky metody.

LDL imunoadsorpce (imunoadsorpce LDL cholesterolu) je ze selektivních metod tou nejstarší (44). Zde je důležitá interakce protilátek, a to monoklonálních, namířených proti antigenním strukturám apo B₁₀₀ (apolipoproteinu B₁₀₀) (19). Jsou zde používány kolony LDL Lipopak a Therasorb firmy Baxter, Pocard.

DSA (adsorpce na dextransulfát). Tato technika byla popsána Antwillerem (100) a Mabuchim a dalšími (1). K tomu se používají kolony Liposorb L – firma Kaneka, Osaka, Japonsko. Principem této metody je interakce mezi záporným nábojem řetězců dextransulfátu a kladným nábojem apo B₁₀₀ (37).

Termofiltrace

Tuto techniku popsal p. Nose (65). Plazma je odstraněna běžnou separací ohřátá a to při 40°C a poté filtrována přes membránu. VLDL a LDL cholesterol jsou z plasmy odděleny, ale HDL cholesterol je zde ponechán. Po ochlazení je plasma vrácena pacientovi zpět.

Extrakorporální precipitace LDL cholesterolu navozená heparinem – HELP (Heparin induced Extracorporal LDL Precipitation). Pracuje na principu elektrostatické interakce mezi apo B₁₀₀ a heparinem při sníženém pH, což zvyšuje počet kladných nábojů v molekule apo B₁₀₀ a usnadňuje precipitaci s heparinem (62). Tato technika byla rozvedena Wielanden a Seidlem (43). Plasma separovaná filtrací je vystavená tlumícímu roztoku. Komplex precipituje v kyselém prostředí a je zachycen na polykarbonátový filtr. Nerozpustný komplex heparin – LDL se projevuje v přítomnosti heparinu v pH 5, 12 (80). Nadměrný heparin je odstraněn pomocí adsorberu. Fyziologické pH plasy je obnoveno přidáním bikarbonátu a poté upravena též objemově, kdy je pacientovi vrácena zpět do oběhu.

Přímá adsorpce lipoproteinů z plné krve (LDL – hemoperfuze) využívá nehemolyzujícího adsorbentu a akrylátu. Ten umožňuje perfuzi kolony plnou krví, což zjednodušuje technické provedení. Příkladem je systém DALI (Direct Adsorption of Lipids). Jedná se o první LDL – adsorpci, která bezprostředně eliminuje LDL cholesterol z celé krve (21). Tato metoda byla uvedena do kliniky Co. Fresenius v Německu roku 1996. Tento systém aferéz je aplikován nepřetržitou hemoperfuzí plné krve pacientů (22). Jeví se být velmi efektivní metodou a při jejím použití je bez signifikantních vedlejších účinků.

Metody založené na filtraci částic z plasy (Secondary membrane plasma fraction) umožňuje odstranění vysokomolekulárních proteinů pomocí zařazení sekundárního filtru z plasy. Na fyzikálních vlastnostech použitého filtru závisí selektivita filtrace a nejdůležitější je zde velikost pórů filtru. Nejen LDL částice, ale i další makromolekuly, jako fibrinogen a imunoglobuliny, jsou eliminovány (93). Výsledkem toho je zlepšení rheologických vlastností krve. Ty lze využívat u různých poruch mikrocirkulace. Modifikace této metody jsou nazývány dvojité filtrační plasmaferéza (DFPP), rheoferéza, kaskádová filtrace či membránová diferenciální filtrace (membrane differential filtration) (89, 90). V tomto případě užívá primárního přístroje, který pracuje na principu filtrace. Ve světové literatuře je někdy užíván název

„plasma fraction“ a to v případě užití primárního přístroje, který odděluje plasmu na principu centrifugace.

1.3.3. Srovnání nejčastěji užívaných metod

Tabulka 2: Metody extrakorporální eliminace LDL cholesterolu

Metoda	Autor	Výhody / Nevýhody
Plasmaferéza	De Gennes et al.	+ rychlá eliminační metoda – ohrožení infekcí – nebezpečí senzibilizace
Kaskádová filtrace (34)	Agishi et al.	– poloviční selektivita, technická náročnost, nákladnost metody
Imunoadsorpcie (24)	Stoffel et al.	+ selektivní metoda, efektivita, specifická metoda – technicky náročná, nákladná metoda
HELP (heparin induced LDL precipitation) (82)	Willand et al.	+ vysoká efektivita – technicky náročná, obtížná, nespecifická metoda s komplikovaným principem
Termofiltrace	Nose et al.	+ selektivní metoda, efektivita – aktivita makromolekul při vyšších teplotách
Dextranulfátem indukovaná LDL precipitace (45, 98)	Antwiller et al.	+ selektivní metoda, efektivita, nespecifické vedlejší účinky – technicky náročná

LDL – adsorpce (92)	Mabuchi et al.	+ selektivní metoda, vysoká efektivita, nespecifické vedlejší účinky – technicky náročná
DALI (Direct adsorption of lipids)	Co. Fresenius (74)	+ selektivní metoda, nespecifické vedlejší účinky – limitní kapacita, ekonomická náročnost

Některá data ukazují, že IA, DSA a HELP jsou metody srovnatelně účinné ve snižování LDL-cholesterolu s průměrnou redukcí o 62 %, 65 %, resp. 59 % při jedné proceduře. Podle jiné studie jsou IA a DSA stejně účinné a obě mírně účinnější než DALI – snižují LDL-cholesterol o 82 % resp. 84 % oproti 77 % u DALI.

LDL-aferéza vede k navození ustáleného stavu, charakterizovaného rovnováhou mezi syntézou a odstraňováním cholesterolu (5). Pravidelné procedury vedou ke zpomalení nebo zastavení progresu či dokonce k regresi aterosklerotických plátů a k redukcí počtu koronárních příhod a rizika smrti na ICHS.

1.3.4. Historie LDL - aferézy a její současnost

Problematikou separačních technik se v České republice zabývala Fakultní nemocnice v Hradci Králové už od začátku 80. let (17). Oddělení klinické hematologie tak má bohatou klinickou zkušenost s více než 5 000 léčebnými zákroky jak plazmaferézou, jako nespecifickou metodou, tak od roku 1996 také LDL aferézou. Obě tyto metody byly zavedeny na našem území jako první. Efektivita LDL-aferézy koreluje se zpomalením progresu či dokonce s regresí koronární aterosklerózy (61).

LDL-aferéza je v současné době považována za metodu relativně bezpečnou a efektivní (2). V průběhu jedné extrakorporální léčebné procedury může být v závislosti na použité technice možné snížit výchozí hladinu LDL cholesterolu o více než 70 % výchozí hodnoty a redukována je také hladina lipoproteinu(a), jenž je považován

za významný aterogenní rizikový faktor u pacientů s FH (23). Současně bylo u poloviny pacientů popsáno zvýšení HDL cholesterolu až o 60 %. Velká pozornost je věnována sledování efektu dlouhodobé léčby na cévní, zejména koronární systém, kde byly doloženy příznivé výsledky. Zlepšení ischemie myokardu a stabilizace až regrese procesu aterosklerózy byla popsána i dalšími autory u pacientů s FH v dlouhodobé léčbě LDL-aférou (55).

1.3.5. Vedlejší účinky léčby LDL – aférou

LDL - aférou patří mezi technicky nejsložitější a časově náročné hemaferetické procedury. LDL - aférou je třeba pravidelně a dlouhodobě, a to většinou celoživotně, opakovat (79). Proto četnost a tíže vedlejších účinků, vedoucí k předčasnému ukončení LDL - aférou nebo prodloužení intervalu mezi nimi ovlivňují ve svém důsledku i klinický efekt léčby.

Mezi nejčastější nežádoucí účinky hemaferéz patří příznaky citrátové toxicity. Roztok citrátu je aplikován za účelem zajistit regionální antikoagulaci potřebnou k zamezení tvorby trombů v přístroji (64). Je přidáván ke krvi pacienta a po pasáži přístrojem se dostává do jeho oběhu. Přisun citrátu k nemocnému závisí na průtoku krve přístrojem a poměru přidávaného roztoku citrátu k pacientově krvi (67). Tvorbou komplexů s ionty kalcia působí citrát pokles ionizovaného kalcia v plazmě. V organismu je citrát rychle redistribuován a cestou cyklu trikarboxylových kyselin metabolizován na bikarbonát. Následkem odbourání citrátu se do krve opět uvolňuje ionizované kalcium, takže při běžném dávkování nedochází k významné systémové antikoagulaci.

V průběhu hemaferéz dochází k individuálně variabilnímu poklesu krevního tlaku, který v závislosti na velikosti poklesu a vnímavosti pacienta může být zcela bez příznaků nebo vyvolat pocit nevolnosti a mdlob a nebo výjimečně vyústit v krátkodobé bezvědomí (15). Závažné, až život ohrožující jsou anafylaktoidní reakce, popsané především u dextransulfátových adsorbentů v souvislosti s medikací inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu (68, 60). Mezi další vedlejší účinky hemaferéz patří alergické a pyretické reakce, projevy přetížení tekutinami, vzduchová embolie,

minerálové dysbalance, hemolýza, obtíže se zavedením žilních vstupů a jejich komplikace (4, 99).

1.3.6. Ukazatele ke sledování změn po výzkumných procedurách

Základní vyšetření:

Klinicko-biochemické parametry – glykémie, Na⁺, K⁺, chloridy vápník, fosfor, urea, kreatinin, kyselina močová, celkový bilirubin, ALT, AST, GMT, CK, APL, TP, albumin, spektrum lipoproteinů – celkový cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, TAG, Apo A, Apo B, lipoprotein A

Hematologické vyšetření – hemoglobin, hematokrit, střední objem erytrocytu, celkový počet trombocytů a leukocytů

Speciální vyšetření: PLT (počet krevních destiček), MPV (střední objem trombocytu), PDW (šíře distribuce trombocytů) - výpočtem, PCT (destičkový hematokrit) - výpočtem
Viskozita plné krve a plasmy, fibrinogen, α_2 makroglobulin, IgM, vWF, E a P selektin, MCP-1, hsCRP, endoglin, stav lipoperoxidace, morfologické sledování aktivity sklerotických změn, monitorování stavu pacienta

2. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY

Cílem této práce je zjistit účinnost extrakorporální eliminace LDL cholesterolu při dlouhodobé terapii a to pomocí základních i speciálních laboratorních ukazatelů.

3. METODIKA

Jedná se o analýzu dat za roky 2004 – 2007, která jsou získaná při léčbě pacientů.

3.1. Soubor nemocných léčených rheoferézou a LDL - aferézou

Jedná se o sekundární prevenci u relativně mladých lidí, kteří byli postupně zařazováni do skupiny nemocných z metabolické kliniky LF UK Hradec Králové a metabolické poradny kliniky geronto - metabolické. U těchto pacientů se nedařilo snížit hodnoty LDL cholesterolu pod 4 mmol/l ani po dobré spolupráci a změně

životního stylu, ani po dietě a podávání hypolipidemik (18). Léčba rheoferézou probíhala průměrně $3,1 \pm 0,59$ roku (2,69-3,97), medián 2,88 roku.

Vzhledem k omezené době výzkumu a ekonomických náročnosti dlouhodobé periodické léčby, nebylo možno získat větší skupinu nemocných.

Tabulka 3: Klinická charakteristika nemocných (zdroj: vlastní výzkum)

pacient č.	pohlaví	věk	genová dispozice	BMI	ateroskleróza	Metoda léčby
1	žena	23	Homozygot	23,1	ano	LDL-aferéza
2	žena	30	Homozygot	18,9	ano	LDL-aferéza
3	žena	64	Heterozygot	18,7	ano	LDL-aferéza
4	žena	62	Heterozygot	32,1	ano	LDL-aferéza
5	muž	42	Heterozygot	28,4	ano	LDL-aferéza
6	muž	65	Heterozygot	23,8	ano	LDL-aferéza
7	muž	65	Heterozygot	30,4	ano	LDL-aferéza
8	muž	60	Heterozygot	30,8	ano	LDL-aferéza
9	muž	41	Heterozygot	33,8	ano	LDL-aferéza
10	muž	27	Homozygot	23,7	ano	LDL-aferéza, rheoferéza
11	muž	53	Heterozygot	42,6	ano	rheoferéza
12	muž	42	Heterozygot	27,1	ano	rheoferéza
13	žena	53	Heterozygot	26,3	ano	rheoferéza

3.1.1. Soubor nemocných léčených LDL – aferézou

Soubor pacientů, které jsou zde na pracovišti vyšetřovány, tvoří celkem 9 pacientů (čtyři ženy a pět mužů). Tito pacienti trpí těžkou familiární hypercholesterolémií a všichni jsou léčeni LDL aferézou na principu imunoabsorbce.

V době vyhodnocování výsledků byl jejich průměrný věk 48 ± 16 let (rozmezí 19 – 61 let, medián 59 let). Z toho čistou hypercholesterolémií trpí celkem 5 pacientů. Jedná se o heterozygoty s těžkou formou familiární hypercholesterolémie a homozygoty familiární hypercholesterolémie. Čtyři nemocní měli kromě zvýšeného cholesterolu zvýšené i triglyceridy a to tak, že 2 pacienti z nich velmi výrazně a další 2 mírně a nepravidelně (jde o pacienty s heterozygotní formou familiární hypercholesterolémie). Nemocných, kteří měli zvýšený Lipoprotein (a) průměrně na hodnotu 1,23, bylo celkem 5. Průměrný BMI byl $26,4 \pm 5,5$ rozmezí 18,3 – 32,4, medián 28,4.

3.1.2. Soubor nemocných léčených rheoferézou

V případě léčby rheoferézou je soubor pacientů malý. Jedná se o 4 nemocné, z toho jedna žena a tři muži. Z toho jeden (č.10) byl léčen jak LDL- aferézou, tak také rheoferézou. V době vyhodnocování výsledků byl jejich průměrný věk $44,5 \pm$ (rozmezí 27 – 53 let, medián 32 let).

3.2. Sběr vzorků a jejich zpracování

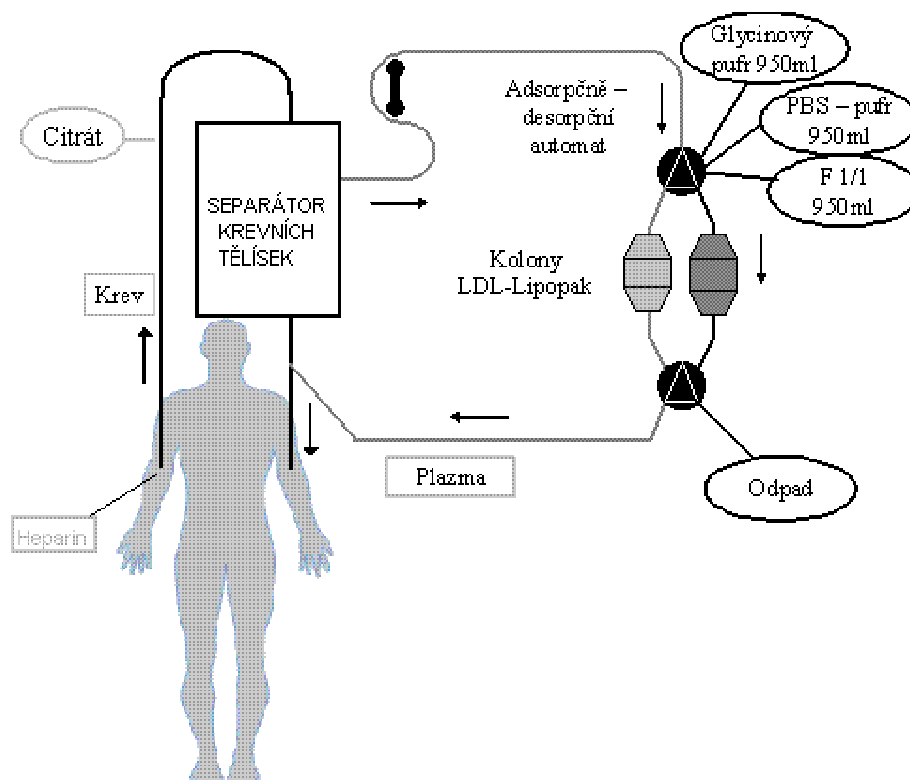
Ráno, před LDL – aferézou, byl odebrán první vzorek ranní moči, a to ke stanovení kreatininu, albuminu a neopterinu. Další první, druhý, pátý a čtrnáctý den po LDL – aferéze. Poslední vzorek však v den další LDL – aferézy ráno. Tyto vzorky byly zmrazeny na teplotu $- 20$ °C a při této teplotě jsou také skladovány. Z periferní krve byly odebrány vzorky krve před a po skončení LDL – aferézy a vyšetřeny v ten samý den. V těchto vzorcích se stanovovalo: celkový cholesterol, LDL – cholesterol, HDL – cholesterol, Lipoprotein (a), kyselina močová, močovina, kreatinin, albumin, glukóza, byl též proveden krevní obraz a další. Uchovávání vzorků plazmy je poté při teplotě $- 40$ °C. Ke speciálnímu vyšetření jako je koncentrace fibrinogenu, PAI-1, trombomodulinu, von Willebrandova faktoru a t-PA je nutné dodržet určitá pravidla uchování.

3.3. Technické provedení LDL - aferézy

Léčba LDL aferézou je metoda selektivní a specifická, relativně bezpečná a v klinické praxi efektivní (101). V odborné terminologii je nazývána jako vazebná chromatografie a imunoabsorbce. V roce 1991 byla popsána Stoffelem a v témž roce zavedena do klinické praxe Borbergem.

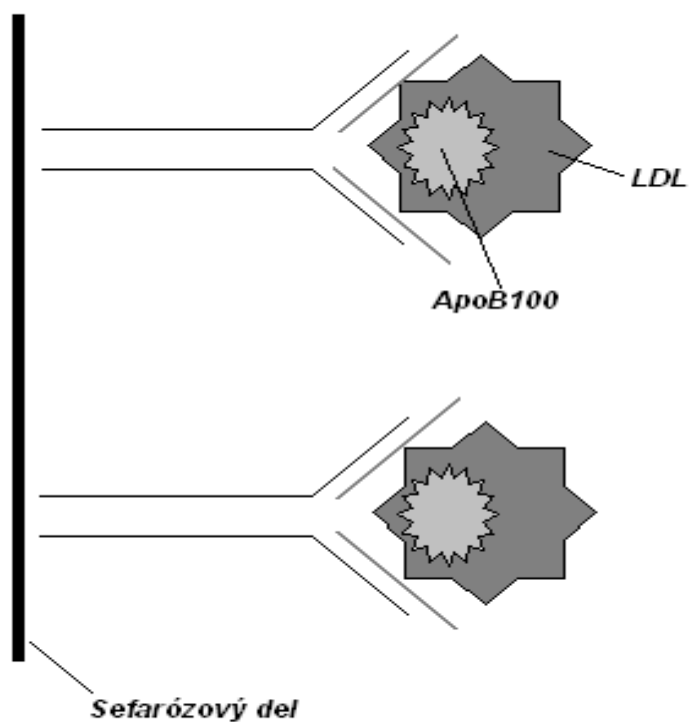
Principem metody je tedy imunoabsorbce. Plasma je separátorem oddělena od plné krve, poté se mísí s antikoagulačním roztokem a je promývána ve speciální koloně. Zde jsou na povrchu separovaného gelu fixovány ovčí protilátky proti apolipoproteinu B100 (75). Ten tvoří hlavní proteinovou složku LDL cholesterolu.

Obrázek 1: Schéma imunoabsorbce LDL cholesterolu



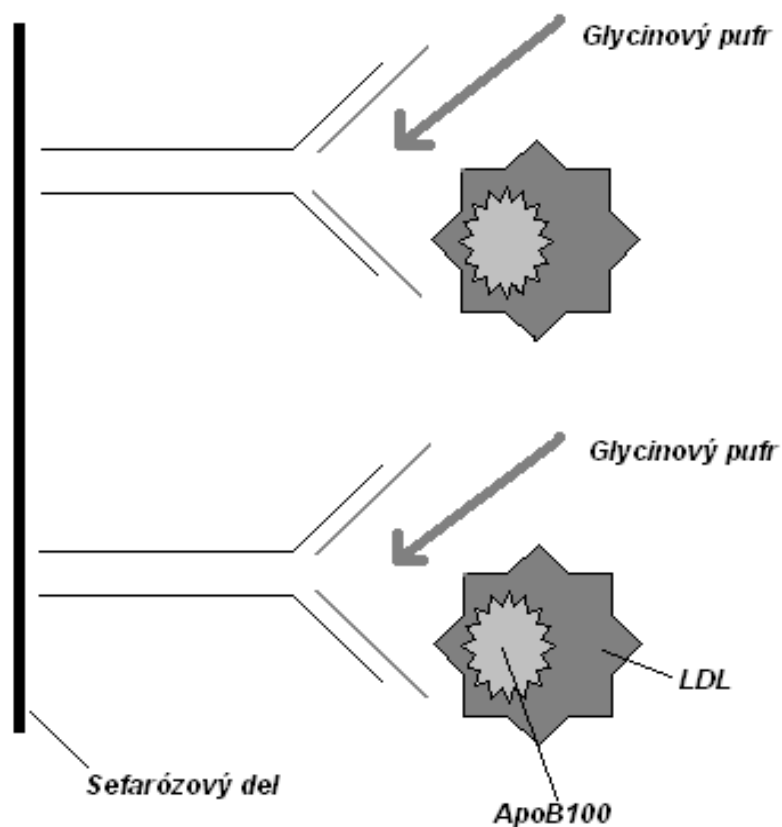
Z periferního žilního vstupu je vedena krev speciální jehlou (obvykle 1,6 mm) kontinuálním průtokem do separátoru Cobe Spectra (COBE, BCT, Denver, USA). Ten, na principu centrifugace, odděluje krevní tělíčka od plasmy (66). Ta je dále čerpána do adsorpčně – desorpčního automatu ADAorb (73) nebo ADA (Medicap, Ulrichstein, Německo). Tento přístroj si sám řídí střídavé plnění – adsorpci a vymývání – desorpci a to dvou adsorpčních kolon LDL – Lipopak (Pocard Ltd., Moskva, Rusko). V pracovním cyklu je tedy zapojeny jedna kolona a druhá regenerována (57). To se děje pomocí glycinového pufru o pH 2,4 (16, 56). Toto prostředí je následně upraveno PBS pufrem, který je po té vymyt fyziologickým roztokem. Tyto regenerační roztoky jsou dále odvedeny do odpadního vaku. Z pracovní kolony vytéká očištěná plasma, která se vrací do separátoru (26). Zde se opět mísí s krevními tělísky a následně vrácena zpět do periferní žíly pacienta (13). Cyklus adsorpce a desorpce podstoupí každá z páru kolon zpravidla dvakrát. Zajištění antikoagulace je pomocí kontinuálního podání roztoku citrátu a iniciálním podáním 2 500 jednotek heparinu intravenózně. Následuje kontinuální infuze heparinu 50j./ min intravenózně a od poloviny procedury LDL – aferézy se postupně snižuje dávka až k úplnému vysazení heparinu.

Obrázek 2: Schéma principu imunoadsorpce



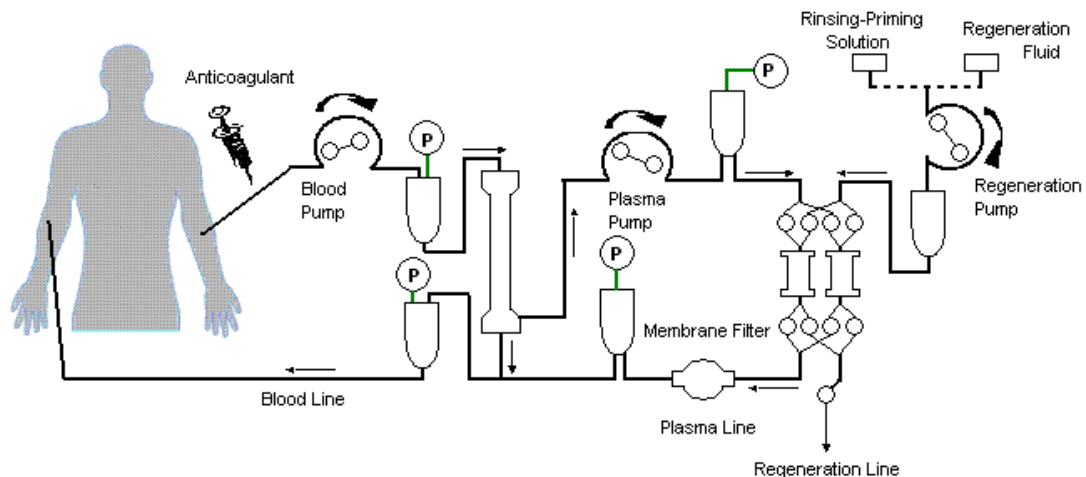
Imunoadsorpční kolonou prochází plazma (42). Z ní jsou vychytávány LDL částice prostřednictvím interakce mezi ApoB100 a protilátkami proti ApoB100, které jsou navázané na sefarózovém gelu (11, 9).

Obrázek 3: Princip regenerace kolon (desorpce)



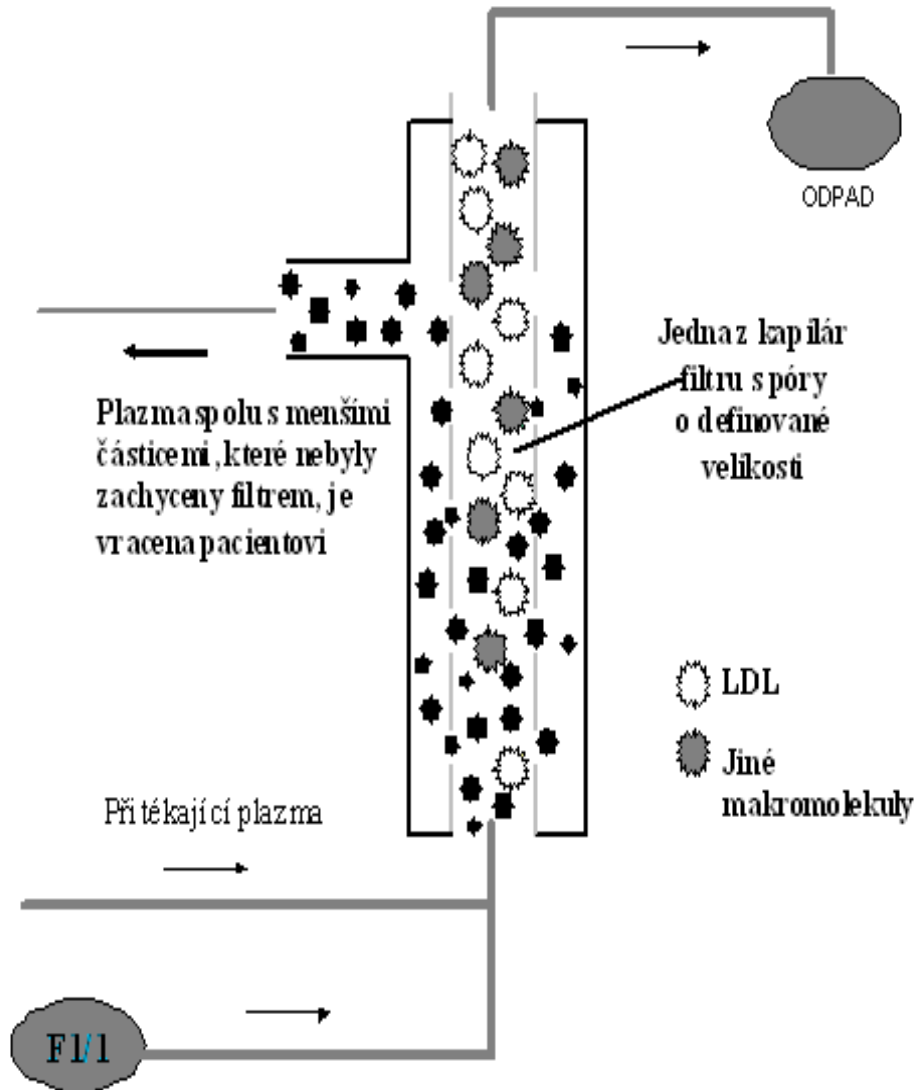
Pomocí glycinového pufru je uvolněna vazba mezi částicemi LDL a protilátkou proti Apo B 100 (58, 87). Poté se pH prostředí v koloně upraví pomocí PBS pufru. Následně je tento pufr vymyt fyziologickým roztokem.

Obrázek 4: Schéma LDL - aferézy



Pomocí separátoru Cobe Spectra je plasma oddělena od krevních tělísek (84). Dále je vedena do linek přístroje CF 100 (Infomed, Ženeva, Švýcarsko) pomocí čerpadla (19). Přístroj si sám řídí průtok plazmy přes kapilární filtr Evaflux 4A nebo 5A (Kuraray, Osaka, Japonsko). Očištěná plazma po spojení s krevními tělísky je vedena zpět do krevního oběhu pacienta (31). Při známkách obstrukce filtru přístroj provede proplach fyziologickým roztokem krevních tělísek (20). Roztok je pak s odfiltrovanými částicemi odveden do odpadního vaku. Kontinuální nitrožilní aplikací citrátu (ADC – A, Baxter, Belgie) a iniciálním jednorázovým podáním heparinu 4 000 intravenózně je zajištěna antikoagulace (38, 39).

Obrázek 5: Princip filtrace LDL částic



Tabulka 4: Výhody a nevýhody LDL - aferézy (7)

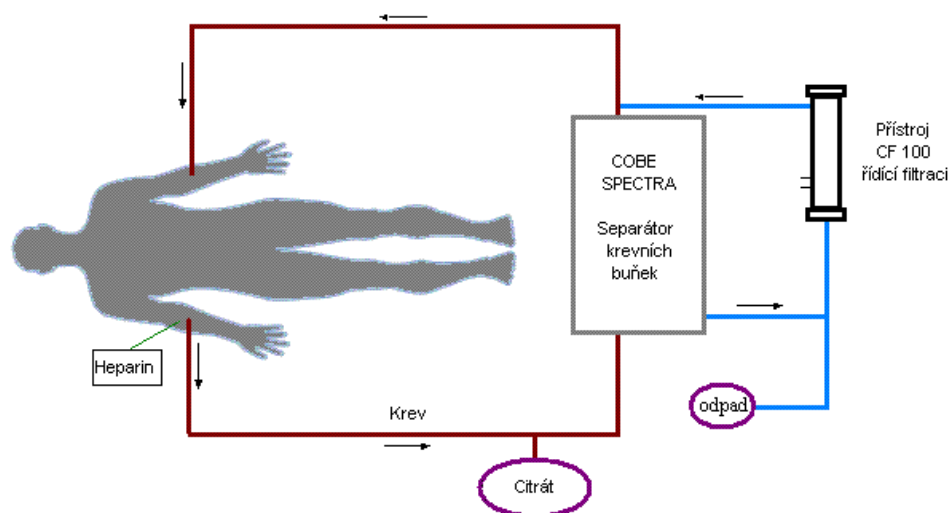
I. Biochemická	II. Technická	III. Ekonomická
On - line terapeutická afinitní chromatografie	Opakující se cyklický děj dvou kolon	Vícenásobně použitelná (na 50 - 100 léčebných aplikací)

specifita eliminace	fakticky neomezená kapacita	
vícenásobné použití		

3.4. Rheoferetická léčba

Jedná se o kaskádovou metodiku, kdy je plazma, získaná kvalitním separátorem Cobe-Spectra, proháněna filtrem. Kapilárami filtru Evaflux 4A (Kuraray, Osaka Japonsko) protéká plazma. Velikost pórů je přesně definována, a to 30 nm. Makromolekuly, jako jsou LDL částice o velikosti 180 – 280 nm, též fibrinogen, imunoglobuliny, α -2 makroglobulin, fibronectin apod., jsou v kapilárách zachyceny a odstraňovány do odpadu. To se děje proplachováním kapilár fyziologickým roztokem. Míra zachycení je závislá na velikost molekul jednotlivých částic. Ta je přesně definovaná pomocí tzv. sieving koeficientů, které udávají podíl částic, které procházejí póry filtru. (Data od výrobce filtrů Evaflux: sieving koeficient albuminu 0,90, imunoglobulinu M 0,1, imunoglobulinu G 0,83, fibrinogenu 0,25, HDL 0,82, LDL 0,02) Pacientovi je vrácena jak očištěná plasmy, tak i menší částice, které póry prochází. Antikoagulační roztok je zde použit heparin, průtok plazmy je kontinuální (8, 46). Základním množstvím zpracované plazmy je jeden tělní objem, vypočtený separátorovým počítačem Cobe (76). Záchyt značeného množství LDL-cholesterolu, lipoproteinu(a), α 2makroglobulinu a imunoglobulinů, především IgM, umožňuje velikost pórů filtru (47, 49). Jedná se o techniku velmi efektivní (94).

Obrázek 6: Schéma rheoferetické léčby



4. VÝSLEDKY

4.1. Vyhodnocení základních technických parametrů při LDL - aferéze

Od ledna 2004 do prosince roku 2007 bylo u devíti pacientů na našem pracovišti provedeno celkem 517 LDL – aferéz. U všech devíti nemocných byl průměrný interval mezi jednotlivými LDL aferézami $36,71 \pm 18$ dní, rozmezí 6 – 158, medián 19. Po vyloučení muže s nízkou úrovní spolupráce z vyšetřovaného souboru byl průměrný interval mezi LDL – aferézami $29,4 \pm 14$, rozmezí 6 – 90, medián 48. U homozygotů familiární hypercholesterolemie to bylo $13,5 \pm 5$ dní, rozmezí 5 – 39, medián 22. Množství zpracované plasmy bylo při jedné LDL – aferéze průměrně $6\,654 \pm 968$ ml, v rozmezí 1200 – 8 734 ml, medián 7 000 ml. Průměrný průtok plazmy byl $30,2 \pm 4,1$ ml/min, rozmezí 20,3 - 38,2, medián 4,5 ml/min. Průměrný průtok krve $67,7 \pm 5,4$ ml/min., rozmezí 45 - 70, medián 70 ml/min. Průměrný objem zpracované plasmy na kilogram pacienta byl 98 ± 24 , rozmezí 14 – 155, medián 84.

4.1.1. Laboratorní ukazatele při eliminaci lipoproteinů LDL - aferézou

Účinnost LDL – aferézy na hladinu lipidů a jejich součástí je shrnuta v Tabulce č. 4. Vyjádření poklesu v procentech výchozí hodnoty je uvedeno v Tabulce č. 5. Co se týče ostatních parametrů, tak jejich hladiny před a po LDL – aferéze jsou shrnuty v Tabulce č. 6.

Tabulka 5: Hladiny lipidů před LDL – aferézou a po ní (zdroj: vlastní výzkum)

	Před LDL-aferézou			Po LDL-aferéze		
	Průměr ± SD	Rozmezí	Medián	Průměr ± SD	Rozmezí	Medián
TC	7,67 ± 1,70	4,31 - 14,23	7,49	2,28 ± 0,59	1,09 - 5,91	2,17
LDL	5,38 ± 1,77	1,63 - 12,5	5,29	0,83 ± 0,57	0,00 - 4,72	0,76
HDL	1,44 ± 0,42	0,64 - 2,92	1,43	1,05 ± 0,29	0,29 - 2,10	1,07
TAG	2,47 ± 2,03	0,37 - 16,26	1,70	1,28 ± 1,35	0,10 - 7,30	0,66
Apo A	1,40 ± 0,31	0,86 - 2,41	1,34	1,04 ± 0,22	0,59 - 1,86	1,00
Apo B	1,43 ± 0,34	0,86 - 2,43	1,37	0,35 ± 0,19	0,14 - 1,05	0,32
Lp(a)	0,52 ± 0,59	0,00 - 2,42	0,33	0,13 ± 0,16	0,00 - 0,87	0,09

Tabulka 6: Procentuální vyhodnocení poklesu lipoproteinů po LDL – aferéze

(zdroj: vlastní výzkum)

	Průměr ± SD (%)	Rozmezí (%)	Medián (%)	n
TC	69,6 ± 7,1	27,5 - 87,5	70,0	512
LDL	83,9 ± 8,4	35,5 - 97,7	85,9	512
HDL	26,4 ± 7,2	6,0 - 66,7	26,2	512
TAG	55,7 ± 19,3	1,4 - 91,0	59,3	510
Apo A	25,6 ± 7,5	2,5 - 62,9	24,1	130
Apo B	75,2 ± 13,6	26,6 - 92,1	75,3	130
Lp(a)	69,0 ± 23,8	26,1 - 91,3	73,9	98

Tabulka 7: Pokles hladin ostatních parametrů při léčbě LDL – aferézou

(zdroj: vlastní výzkum)

n = 117	Průměr ± SD (%)	Rozmezí (%)	Medián (%)	p
Urea (mmol/l)	15,1 ± 7,2	1,5 - 52,5	14,3	≤ 0,001
Kreatinin (μmol/l)	8,1 ± 5,9	-16,4 - 27,5	7,6	≤ 0,001
Kysel. močová (μmol/l)	11,5 ± 3,4	5,1 - 19,9	11,2	≤ 0,001
ALT (μkat/l)	28,3 ± 9,6	0,0 - 67,4	28,6	≤ 0,001
AST (μkat/l)	23,5 ± 12,0	-14,3 - 66,7	25,0	≤ 0,001
Celková bílkovina (g/l)	26,0 ± 4,8	17,7 - 39,0	25,2	≤ 0,001
Albumin (g/l)	24,4 ± 5,3	17,4 - 40,8	23,1	≤ 0,001
Hemoglobin (g/l)	7,2 ± 4,6	-6,9 - 19,5	6,9	≤ 0,001
Hematokrit	7,4 ± 4,8	-2,8 - 23,7	7,2	≤ 0,001
MCV (fl)	-0,1 ± 1,5	-8,2 - 4,7	0,0	0,856
Leukocyty (x10 ⁹ /l)	-3,4 ± 14,7	-53,0 - 29,1	-2,4	0,152
Trombocyty (x10 ⁹ /l)	8,8 ± 11,2	-45,0 - 72,2	8,6	≤ 0,001
Viskozita plazmy (mPa)	14,1 ± 5,1	2,0 - 33,8	14,5	≤ 0,001

4.2. Vyhodnocení základních technických parametrů při rheoferéze

4.2.1. Pokles hladiny základních patogenetických činitelů

Základním laboratorním ukazatelem u pacientů s familiární hypercholesterolémií léčených extrakorporální eliminací je pokles hladiny patologicky zvýšených lipoproteinů. Jedná se o důležitý léčebný efekt z hlediska dlouhodobější prognózy.

Tabulka 8: Vyhodnocení poklesu lipoproteinů při rheoferéze (zdroj: vlastní výzkum)

Parametr	N	před výkonem		po výkonu		významnost P
		Průměr	SD	Průměr	SD	
LDL cholesterol (mmol/l)	27	4,5426	1,3724	1,3478	0,577	<0,001
Apolipoprotein B (mmol/l)	22	1,229	0,202	0,401	0,4165	<0,001

Lipoprotein (a) (mmol/l)	22	0,0718	0,054	0,0157	0,018	0,0011
Triacylglyceridy (mmol/l)	27	6,6059	1,2557	2,4587	0,6617	<0,001
HDL cholesterol (mmol/l)	27	1,2437	0,2042	0,7907	0,1745	<0,001
Fibrinogen (g/l)	26	3,1416	0,7965	1,2658	0,4573	<0,001
Alfa2-makroglobulin	27	213,85	35,5	83,59	38,17	<0,001
Imunoglobulin M (g/l)	27	2,13	0,71	0,68	0,26	<0,001
Viskozita krve (mmPasc.sec)	22	7,1309	1,4839	6,3	1,3174	0,0007
Viskozita plasmy (mmPasc.sec)	25	2,302	0,4822	1,8824	0,3805	<0,001

Tabulka 9: Procentuální vyhodnocení poklesu lipoproteinů při rheoferéze
(zdroj: vlastní výzkum)

	Průměr ± SD (%)	Rozmezí (%)	Medián (%)	n
TC	69,6 ± 7,1	27,5 - 87,5	70,0	220
LDL	83,9 ± 8,4	35,5 - 97,7	85,9	220
HDL	26,4 ± 7,2	6,0 - 66,7	26,2	218
TAG	55,7 ± 19,3	1,4 - 91,0	59,3	219
Apo A	25,6 ± 7,5	2,5 - 62,9	24,1	51
Apo B	75,2 ± 13,6	26,6 - 92,1	75,3	49
Lp(a)	69,0 ± 23,8	26,1 - 91,3	73,9	32

LDL cholesterol po rheoferéze klesá velmi podstatně, a to v průměrně o 83,9 % a apolipoprotein B o 75,2 %. HDL cholesterol klesá také, ale méně než předchozí parametry - 26,4 %.

Pokles fibrinogenu je též významný, a to průměrně o 63,5 %, imunoglobulinu třídy M průměrně o 60,49 % a α 2-makroglobulin o 56,79 %. Tím dochází ke zlepšení rheologických poměrů jako je viskozita plné krve, která průměrně klesá o 10,88%, a viskozita plasmy o 15,43%.

Tabulka 10: Ukazatele rheologické účinnosti léčby (zdroj: vlastní výzkum)

Ukazatele rheologické účinnosti léčby							
sledovaný parametr	N	před procedurou		po proceduře		P	procento rozdílu
		Průměr	SD	Průměr	SD		
IgM	84	1,62	0,73	0,64	0,51	<0,001	-60,49
alfa-2 makroglobulin	84	166,04	51,66	71,74	37,42	<0,001	-56,79
Fibrinogen	80	3,3071	1,0722	1,207	0,5655	<0,001	-63,5
Celkový cholesterol	82	5,08	1,6375	1,9885	0,6646	<0,001	-60,86
LDL cholesterol	82	3,1016	1,5188	0,9221	0,5389	<0,001	-70,27
HDL cholesterol	82	1,2921	0,303	0,7949	0,2461	<0,001	-38,48
Apo B	77	0,8835	0,3131	0,2661	0,1577	<0,001	-69,88
Lp (a)	77	0,1504	0,2225	0,0558	0,0989	<0,001	-62,9
Viskozita krve	75	6,4739	1,2559	5,7696	1,0879	<0,001	-10,88
Viskozita plazmy	78	2,1447	0,4697	1,8138	0,3799	<0,001	-15,43

Legenda:

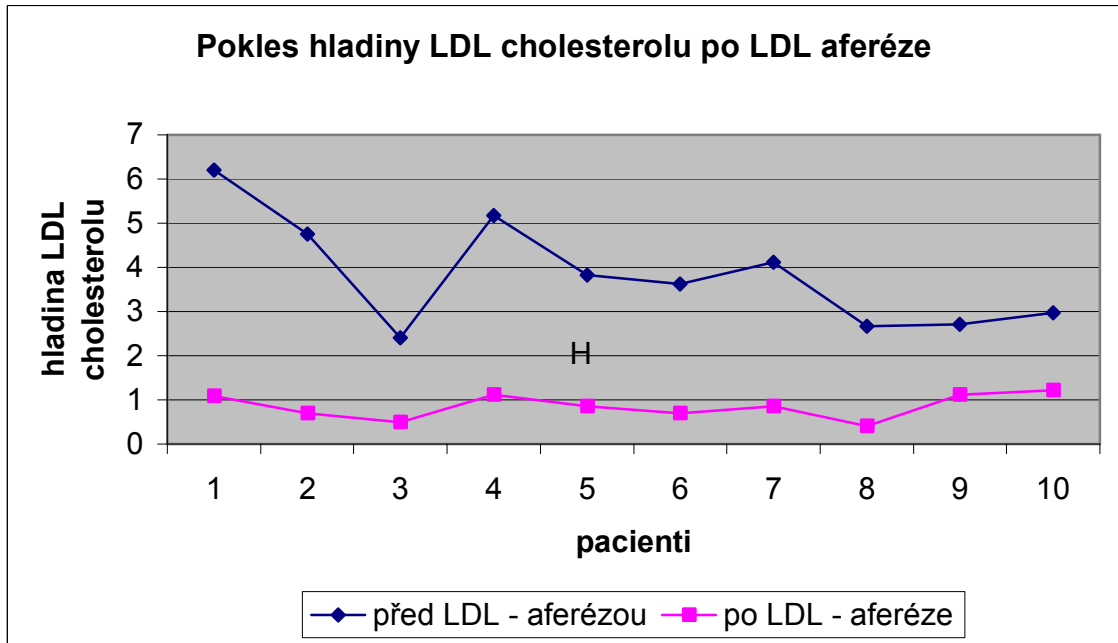
IgM- imunoglobulin třídy M, LDL- (Low Density Lipoprotein) lipoprotein o nízké hustotě, HDL – (High Density Lipoprotein) lipoprotein o vysoké hustotě,

Apo B- apolipoprotein B, Lp(a)- lipoprotein A

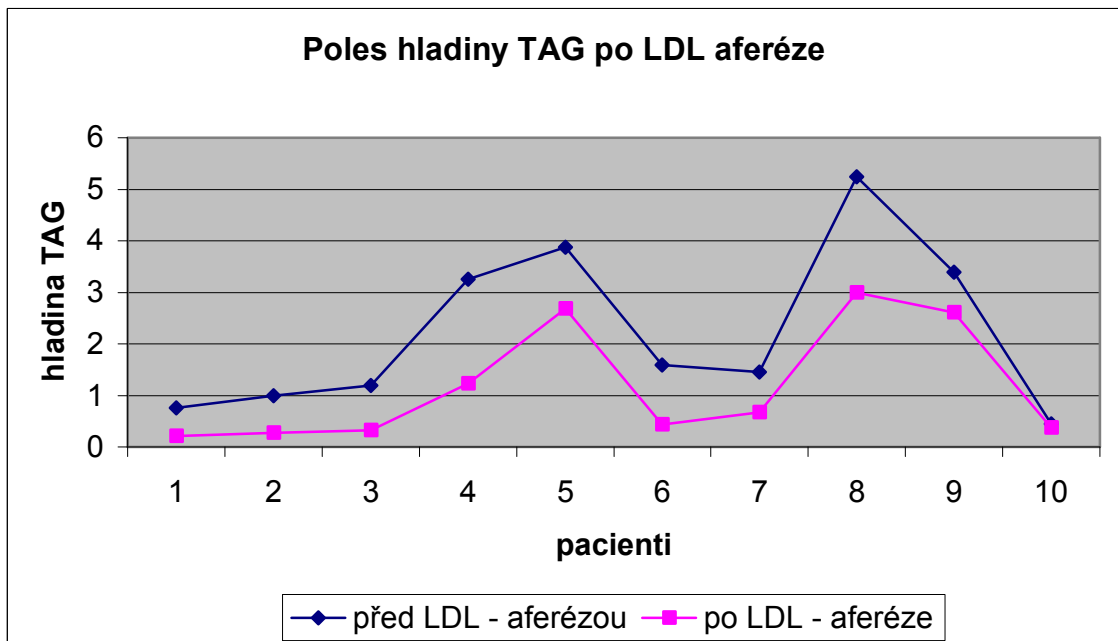
5. DISKUSE K VÝSLEDKŮM

Počet nemocných léčených rheoferézou či imunoabsorpčí (celkem 12) není velký a neumožňuje významné statistické hodnocení. (Uvedený soubor je však pravděpodobně největší takto léčenou skupinou ve východoevropských zemích.) Výsledky dlouhodobé extrakorporální eliminace LDL cholesterolu jsou přesto brány za pozitivní co do klinického efektu v kombinaci s farmakologickou léčbou. Všichni heterozygotní pacienti před léčbou prodělali významné kardiovaskulární komplikace, jako jsou arteriální stenózy v oblasti dolních končetin, infarkt myokardu či mozkové cévní příhody. Někteří pacienti měli tyto komplikace opakovaně. Tyto komplikace se však dále během další léčby u žádného pacienta neopakovaly.

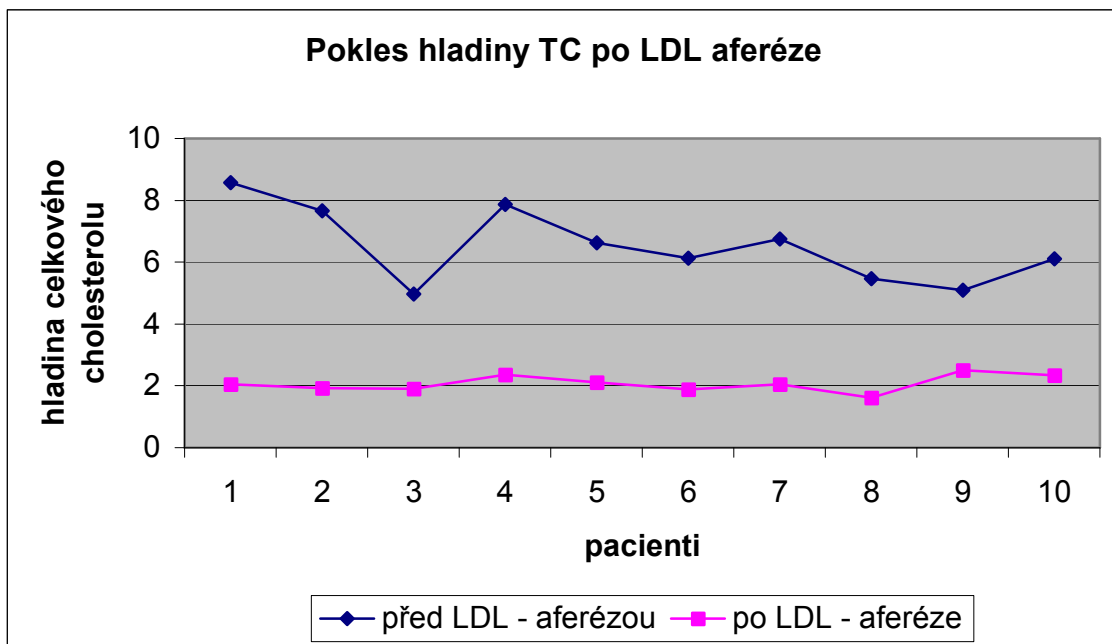
Graf 1: Znázornění hladin LDL cholesterolu před a po LDL – aferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



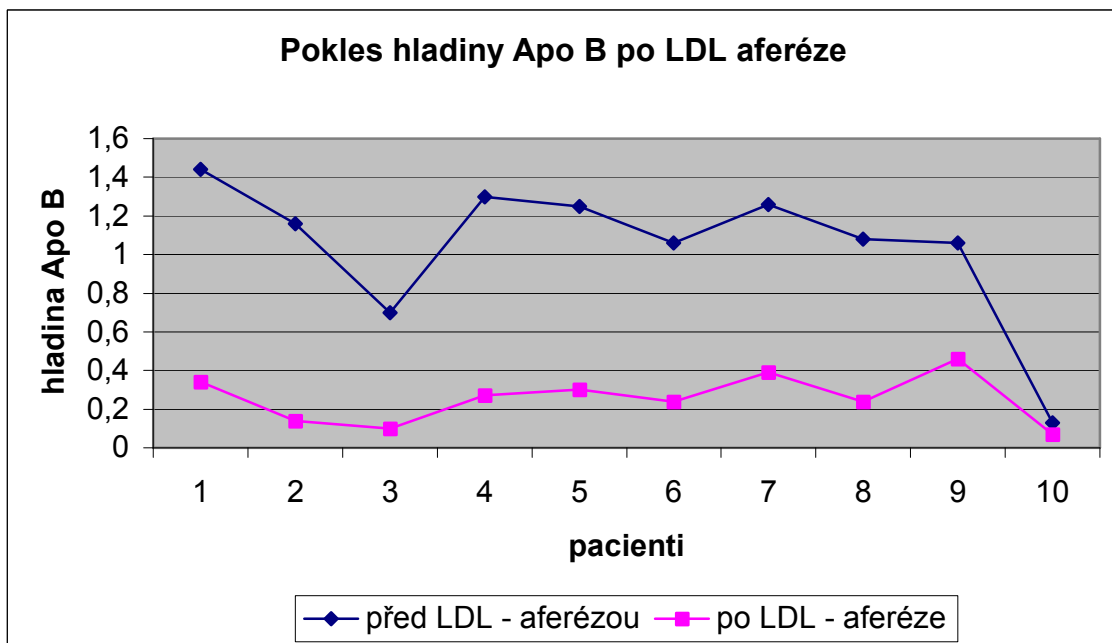
Graf 2: Znázornění hladin triacylglycerolů před a po LDL – aferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



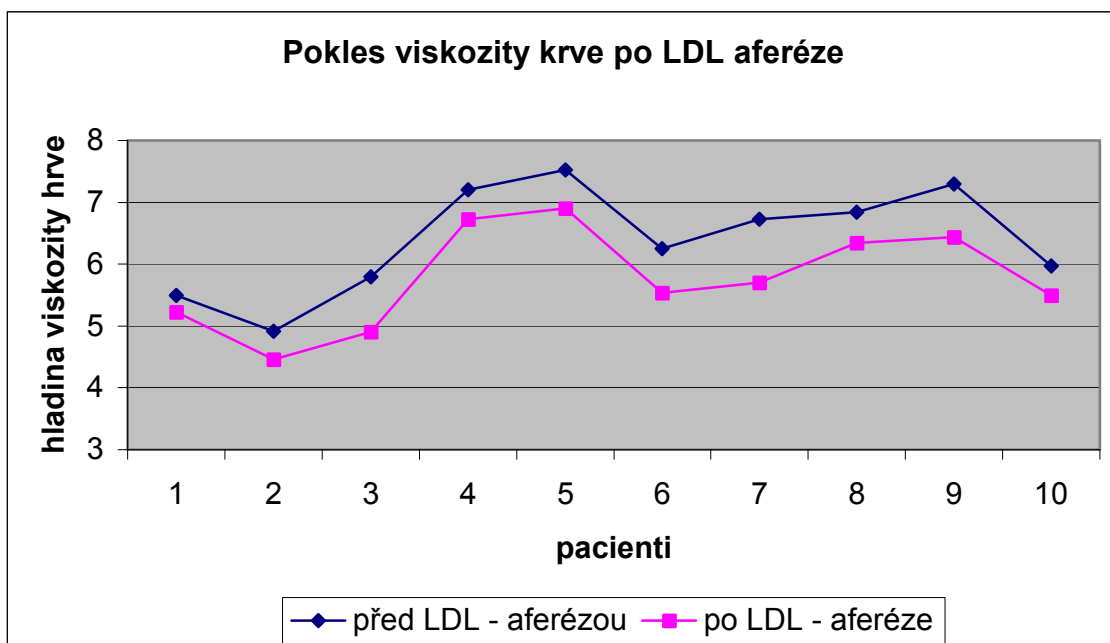
Graf 3: Znáznornění hladin celkového cholesterolu před a po LDL – aferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



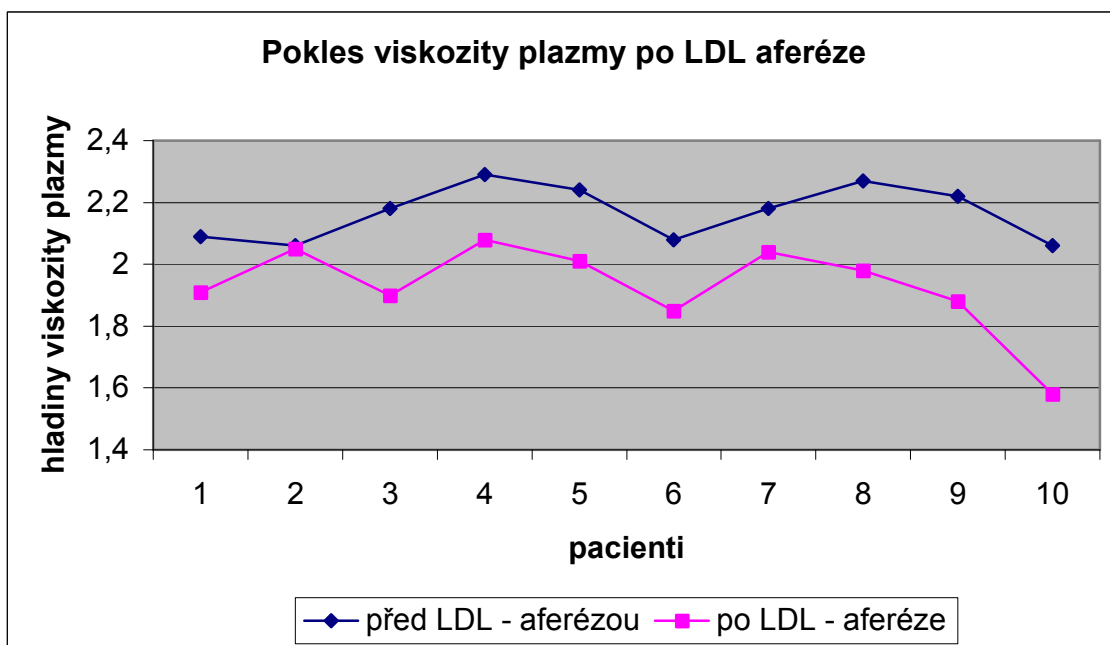
Graf 4: Znáznornění hladin apolipoproteinu B před a po LDL – aferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



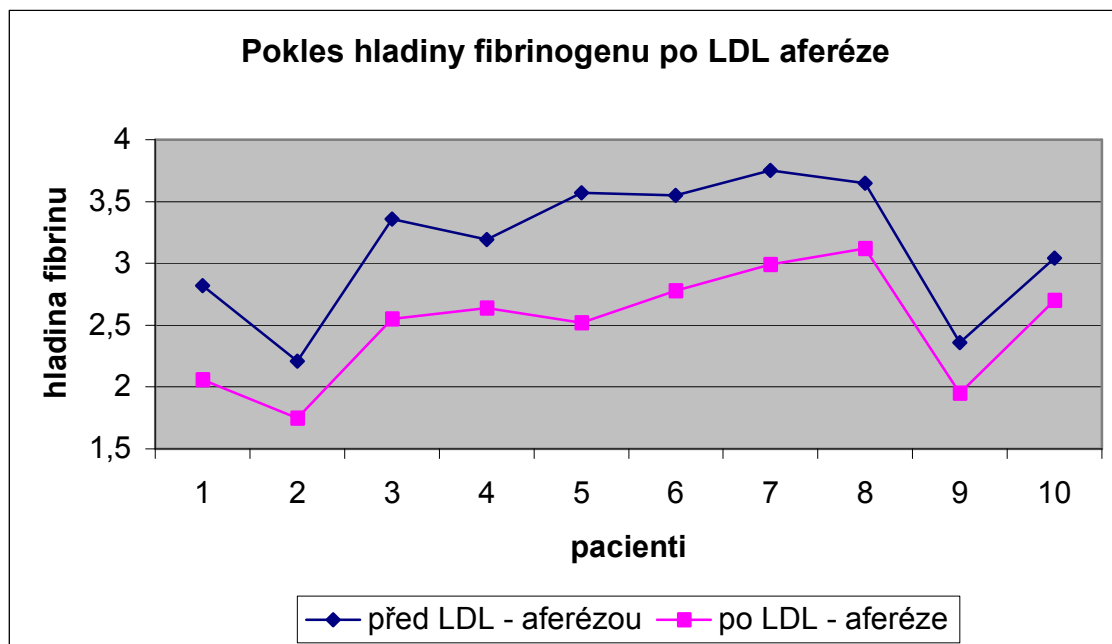
Graf 5: Znáznornění viskozity krve před a po LDL – aferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



Graf 6: Znáznornění viskozity plazmy před a po LDL – aferéze (zdroj: vlastní výzkum)



Graf 7: Znárodnění hladin fibrinogenu před a po LDL – aferéze (zdroj: vlastní výzkum)



5.1. Vyšetření markerů lipoperoxidace, jeho význam, metody a výsledky

Markery lipoproteinů vypovídají o šetrnosti výkonu. Jsou významné z pohledu zachování antioxidační kapacity séra a lipoproteinových frakcí. U léčby nemocných s familiární hypercholesterolémií je šetrnost výkonu zejména důležitá.

Jako markery lipoperoxidace se sledují vitamín E v séru a vitamín A, vitamín E v erythrocytech, malonyldialdehyd a též vitamín E v jednotlivých frakcích, které jsou získané ultracentrifugací. U každého nemocného s familiární hypercholesterolémií byla provedena vždy 3 vyšetření v rozmezí 3 – 4 měsíců tak, jak nemocní přicházejí k pravidelným procedurám. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 11. Nemocní jsou rozdělení dle způsobu léčby. V tabulce jsou uvedeni opět nemocní s familiární hypercholesterolémií, kde je srovnání metod LDL – aferézy a rheoferézy.

Ve spodní části tabulky jsou také uvedeny výsledky vyšetření cholesterolu ve třech frakcích, které jsou získány ultracentrifugací.

Tabulka 11: Ukazatele rheologické účinnosti léčby u nemocných s familiární hypercholesterolémií (zdroj: vlastní výzkum)

sledovaný parametr	Dg. skupina	N	před procedurou		po proceduře		Statistická významnost P
			Průměr	SD	Průměr	SD	
Vit E v séru	LDL - aferéza	25	28,02	5,54	13,00	3,59	0,0000
	rheoferéza	11	35,37	6,61	16,02	3,08	0,0040
Vit A v séru	LDL - aferéza	24	1,65	0,48	1,31	0,42	0,0000
	rheoferéza	11	2,17	0,40	1,81	0,38	0,0110
Vit E v ery	LDL - aferéza	26	2,42	0,96	2,57	0,92	0,39 n.s.
	rheoferéza	10	2,86	1,01	3,06	1,06	0,24 n.s.
Vit E - LDL	LDL - aferéza	27	13,30	2,95	3,30	1,13	0,0000
	rheoferéza	11	16,56	2,77	5,39	1,47	0,0040
Vit E - HDL	LDL - aferéza	27	7,61	2,84	4,88	2,12	0,0000
	rheoferéza	11	6,52	1,82	3,45	1,37	0,0040
Vit E - VLDL	LDL - aferéza	27	9,58	6,07	3,84	3,18	0,0000
	rheoferéza	11	15,85	7,56	6,43	2,29	0,0040
Malonyldialdehyd	LDL - aferéza	27	1,00	0,51	0,73	0,23	0,0010
	rheoferéza	11	1,01	0,23	0,85	0,18	0,0130
Cholesterol - LDL	LDL - aferéza	27	3,30	0,82	0,68	0,26	0,0000
	rheoferéza	11	3,40	1,07	1,53	0,66	0,0090
Cholesterol - HDL	LDL - aferéza	27	1,07	0,39	0,77	0,25	0,0002
	rheoferéza	11	1,33	1,36	0,63	0,25	0,3660
Cholesterol - VLDL	LDL - aferéza	27	1,05	0,66	0,32	0,19	0,0000
	rheoferéza	10	1,49	0,55	0,57	0,28	0,0060

Vyšetření vitamínu E v buněčných membránách (v erythrocytech) ukázalo významný výsledek. I přes dramatické snížení tukového nosiče pro vitamín v krvi, jeho tkáňové koncentrace zůstávají zachovány. Byl zjištěn pokles vitamínu E ve frakcích LDL, HDL A VLDL a stejně tak klesá i vitamín E a vitamín A v séru. Avšak důležitá je

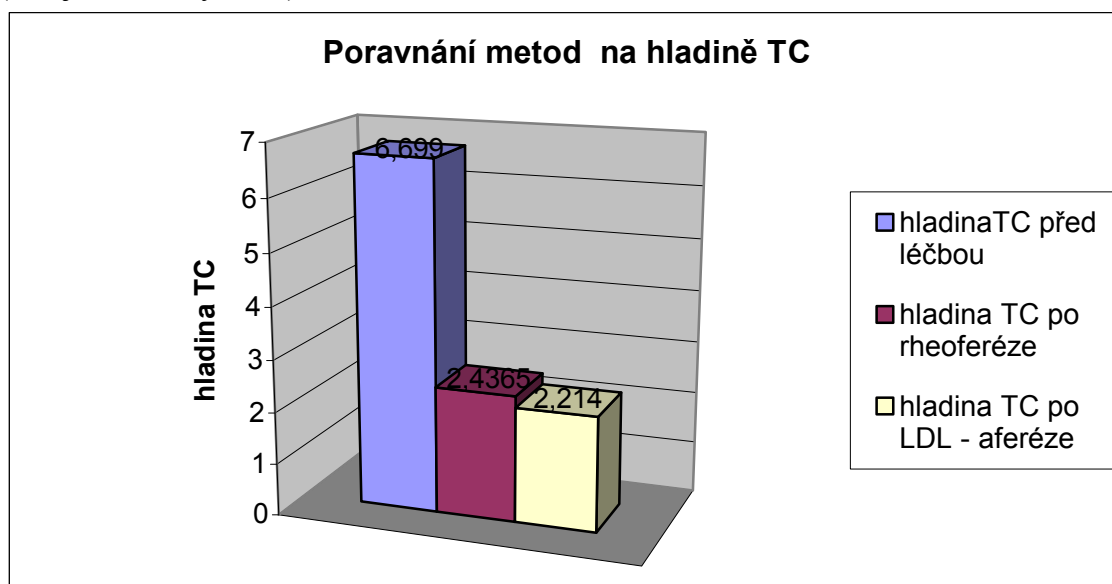
hodnota poměru plasmatického vitamínu E k jednotlivým lipoproteinovým frakcím, kde se relativní obsah vitamínu E nezměnil. Zákroky, které vedou ke snížení LDL cholesterolu, jsou považovány za antiaterogenní. Výsledky ukázaly, že rheologická léčba má výborný efekt snížení LDL-cholesterolémie, kdy se neměnil poměrný obsah vitamínu E na lipoproteinech. Pacientům se nelišily plasmatické koncentrace vitamínu E od fyziologických hodnot a ani nenastaly klinické známky deficitu vitamínu E.

Lidské LDL částice obsahují řadu antioxidantů, které snižují oxidaci lipidů. Např. alfa-tokoferol, který je nejaktivnější forma vitamínu E, je nejvíce zastoupeným antioxidantem v LDL, a to samostatně, či v kombinaci s vitaminem C nebo beta-karotenem. Léčba rheoferézou může mít aditivní příznivý antiaterogenní efekt v důsledku relativně zvýšeného obsahu vitamínu E v lipoproteinových frakcích spolu s významným snížením aterogenního množství LDL částic.

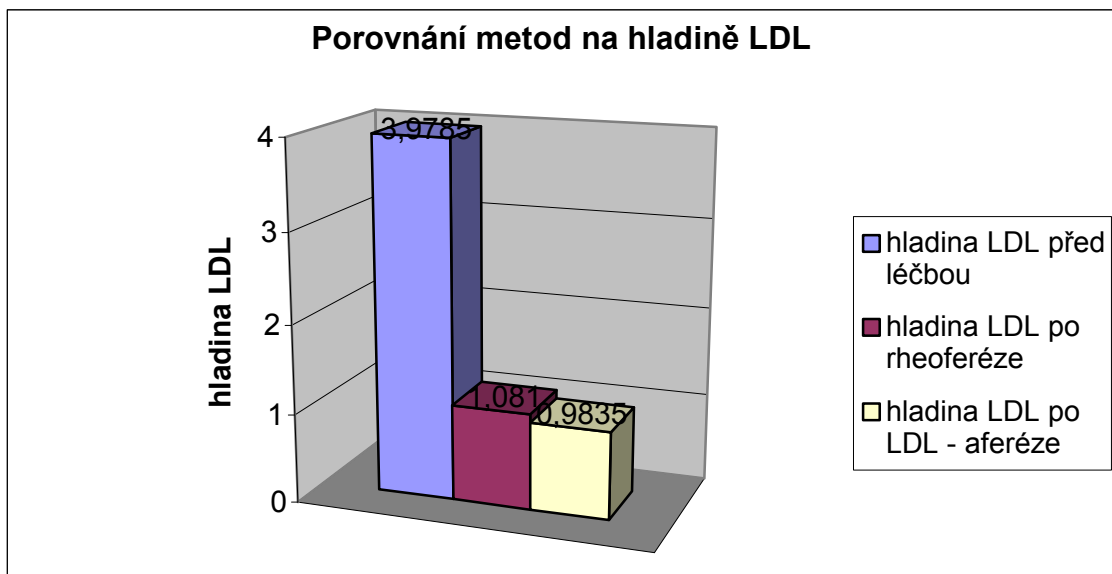
Výsledky sledovaných lipoperoxidativních markerů ukázaly významný a pozitivní efekt procedur extrakorporální eliminace při léčbě familiární hypercholesterolémie uvedených nemocných.

5.2. Porovnání LDL – aferézy a rheoferézy

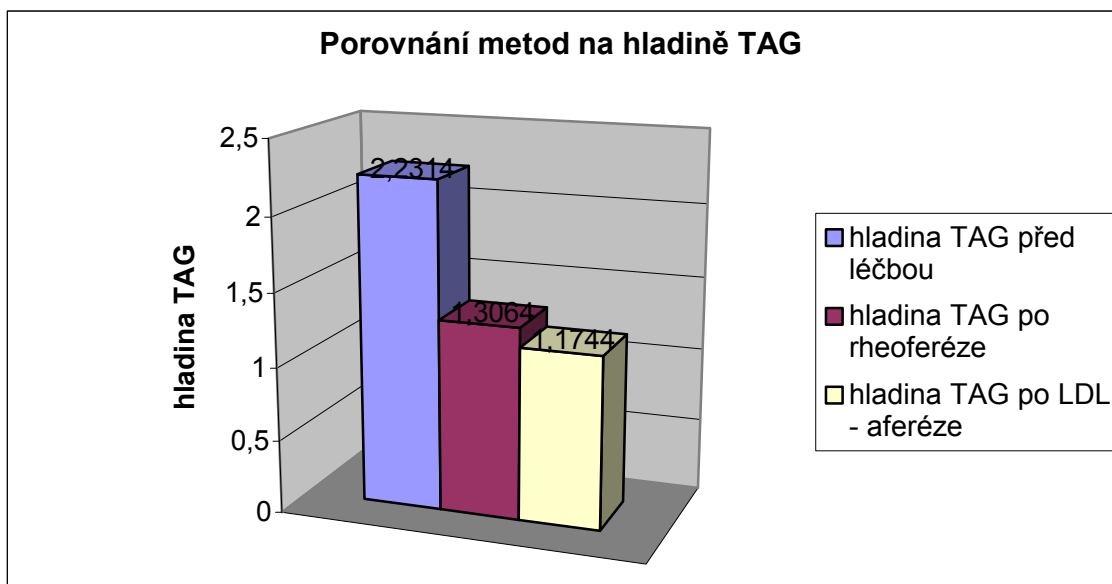
Graf 8: Znárodnění snížení hladiny TC po LDL – aferéze a rheoferéze (zdroj: vlastní výzkum)



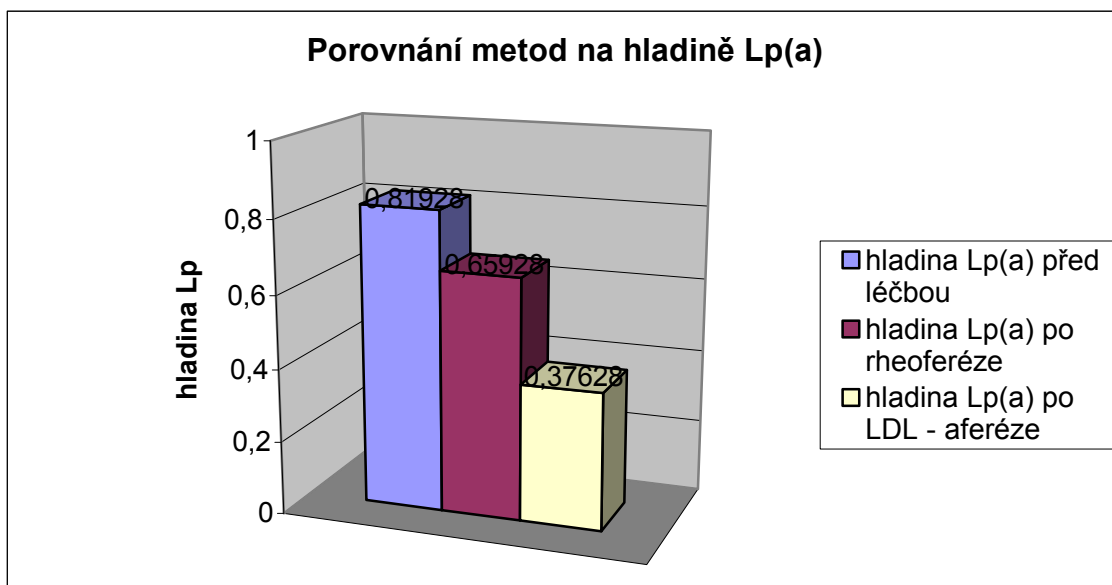
Graf 9: Znárodnění snížení hladiny LDL - cholesterolu po LDL – aferéze a rheoferéze (zdroj: vlastní výzkum)



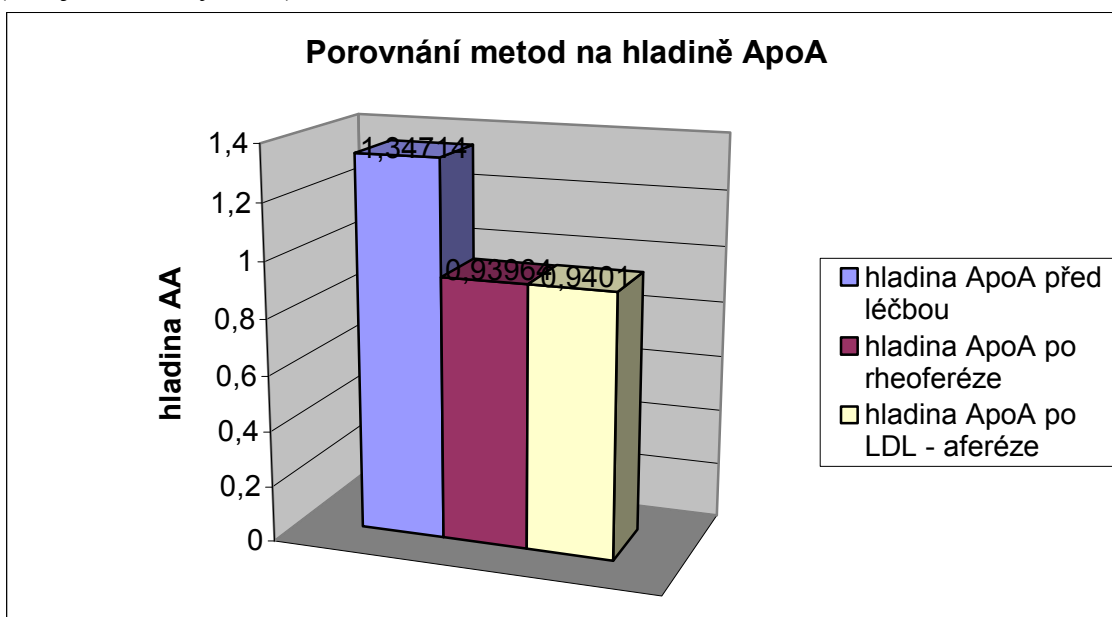
Graf 10: Znárodnění snížení hladiny triacylglycerolů po LDL – aferéze a rheoferéze (zdroj: vlastní výzkum)



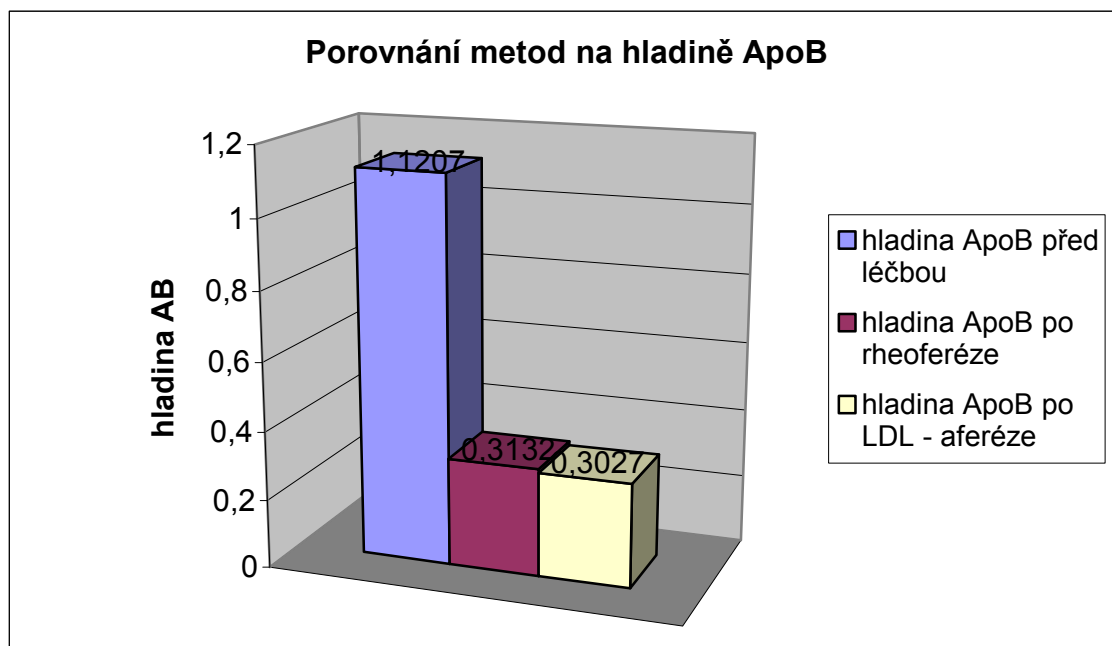
Graf 11: Znáornění snížení hladiny Lp(a) po LDL – aferéze a rheoferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



Graf 12: Znáornění snížení hladiny ApoA po LDL – aferéze a rheoferéze
(zdroj: vlastní výzkum)



Graf 13: Znárodnění snížení hladiny ApoB po LDL – aferéze a rheoferéze (zdroj: vlastní výzkum)



6. ZÁVĚR

6.1. Závěr k léčbě familiární hypercholesterolemie LDL - aferézou

Výsledky sledování hodnoceného souboru nemocných od ledna roku 2004 – prosince 2007, léčených LDL – aferézou metodou imunoadsorpce, ukázaly že tato léčba je metodou bezpečnou s vysokou efektivitou a selektivitou v eliminaci aterogéních lipoproteinů a to u nemocných s těžkými poruchami metabolismu lipidů. Oproti jiným metodám extrakorporální eliminace LDL – cholesterolu má LDL imunoadsorpce výhodu, že je zde vysoká selektivita adsorpce a velká adsorpční kapacita kolon, daná množstvím jejich regenerace a frekvenčního použití. Oproti těmto pozitivům je zde nevýhoda, a to pořizovací cena kolon a jednotlivých výkonů. Důležitým předpokladem pro předcházení nežádoucím reakcím je přítomnost zkušeného personálu. To umožňuje dodržet plánový rozsah i frekvenci procedur.

6.2. Závěr k léčbě familiární hypercholesterolémie pomocí rheoferézy

U nemocných s familiární hypercholesterolémií se rheoferéza ukázala být metodou účinnou a bezpečnou, pokud není dostatečná dieta, změna životního stylu a ani maximální tolerovaná dávka hypolipidemik. Pro náročnost rheoferézy je nutné přesně sledovat pacienty jak po stránce klinické, tak i laboratorní. Co se týče sledování klinického, tak vhodné je měření vrstvy intima-media UZ a základní kardiologická vyšetření. Příznivé ovlivnění průběhu aterosklerózy je po léčebné proceduře, kdy nastane výrazný pokles LDL cholesterolu. Dochází i k významnému zlepšení rheologických poměrů (pokles fibrinogenu, α -2 makroglobulinu a IgM)- což vede k významnému poklesu viskozity plasmy i krve a tím i zlepšení zásobení mikrocirkulace.

Rozdíl LDL – aferézy a rheoferézy

Ekonomicky je rheoferéza v porovnání s LDL – aferézou jednorázově dražší, ale po dlouhodobé léčbě pomocí obou metod se ukáže rheoferéza jako levnější záležitost. Co se týče účinnosti eliminace LDL cholesterolu, tak zde je LDL – aferéza tou metodou, která vychytává z krve pacienta průměrně 3,00 mmol/l. Naproti tomu rheoferéza dokáže snížit hladinu LDL cholesterolu o 2,89 mmol/l. Časově trvá rheoferéza o něco málo kratší dobu než LDL – aferéza a to průměrně o 23 minut.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ANTWILER, G. D., DAU, P.C., LOBDELL, D. D. *Treatment of familial hypercholesterolemia by precipitation of low density lipoproteins with dextran sulfate*. Manuscript. 2000
2. ARCHONTAKIS, S. et al. *LDL-apheresis: indications and clinical experience in a tertiary cardiac centre*. PubMed. Int J Clin Pract. 2007, 61(11):1834-42
3. BAKALÁŘ, B., ZADÁK, Z., PACHL, J. *Severe hypocholesterolemia is associated with adrenal insufficiency in multiple trauma patients*. Intens Care Med 2001;27 (2):253.
4. BAMBAUER, R., SCHAIL, R., LATZA, R. *Current topics on low – density lipoprotein apheresis*. The Apher 2001; 5: 93 – 300
5. BAMBAUER, R., SCHIEL, R., LATZA, R. *Low-density lipoprotein apheresis: an overview*. Therap Apher Dial, 7, 2003, č. 4, s. 391 – 396.
6. BAUMBAUER, R. *Is lipoprotein (a)-apheresis useful?* Ther Apher Dial 2005;9:142-7.
7. BAUMBAUER, R. *Low-density lipoprotein apheresis: clinical results with different methods*. Artif Organs 2002;26(2):133-9.
8. BERROUSCHOT, J., BARTHEL, H., KOSTER, J. *Extracorporeal rheopheresis in the treatment of acute ischemic stroke. A randomized pilot study*. Stroke 1999;30(4): 787-92.
9. BLÁHA M. et al. *Adhesive selectin molecules during extracorporeal cholesterol elimination*. Hematol. J. 2003, vol. 4, suppl. 2, p.
10. BLÁHA M. et al. *Safety and tolerability of long lasting LDL-apheresis in familial hypercholesterolemia*. Ther. Apher. Dial. 2007, 11(1) : 9-15
11. BLÁHA M. et al. *The importance and mutual correlation between the indicators of atheromatosis activity after LDL-apheresis*. Souhrn na vědec. konf. LF 23.1.02. Acta Medica (Hradec Králové). 2002, roč. 45, č.2, s. 48
12. BLÁHA V., et al. *LDL-apheresis as a method of extracorporeal LDL-cholesterol elimination*. Ateroskleróza. 2001, roč. 5, č. 1, s. 19-23.

13. BLÁHA, M. *Extracorporeal LDL-cholesterol elimination in the treatment of severe familial hypercholesterolemia*. Acta Med (Hradec Králové) 2003;46(1): 3-7.
14. BLÁHA, M. *Terapeutická hemaferéza*; Seminář z vnitřního lékařství XVII, Katedra vnitřního lékařství, UK v Praze, LF v Hradci Králové; HK Credit, Hradec Králové : 2004, s.12-15
15. BLÁHA, M., MAŠÍN, V., BLÁHA, V. *Tolerability and side effects of extracorporeal LDL-lowering immunoapheresis in familial hyperlipoproteinaemia*. Atherosklerosa 2004,Eds.: Společnost patologické a klinické fyziologie ČLS JEP, Praha 2004, s. 12
16. BLÁHA, M., ZADÁK, Z., BLÁHA, V. *LDL-apheresis as a method of extracorporeal LDL-cholesterol elimination*. Atheroskleróza 5: 19-23, 2001.
17. BLÁHA, V. et al. *LDL-aferéza: Historie a současná praxe v České republice*. Kapitoly z kardiologie. 2001, roč. 3, č. 2, s. 72-76.
18. BLÁHA, V., SOLICHOVÁ, D., BLÁHA, M. *Vliv agresivní hypolipidemické intervence na vývoj aterosklerotických změn a endoteliální dysfunkce*. In: Sobotka, L., Těšínský, P., Zadák, Z.: Intenzivní a metabolická péče ve vnitřním lékařství. Nucleus HK, 2004, s. 60. ISBN: 80-86225-52-56.
19. BLÁHA, V., ZADÁK, Z., BLÁHA, M., et al. *Klinické využití imunoadsorbční LDL aferézy v léčbě hypercholesterolémií*. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2001; 4: Suppl. 4: 36
20. BLAŽEK M. et al. *Změny parametrů metabolismu a hemostázy u familiární hypercholesterolémie v léčbě LDL – aferézou*. Hradec Králové: Nucleus 2007, ISBN 978-80-87009-16-1
21. BOSH, T. *Direct adsorption of lipoproteins from whole blood by DALI apheresis technique and effects*. Tha Apher 2001; 5: 239 – 243
22. BOSH, T., LENNERTZ, A., SCHMIDT, B. *DALI apheresis in hyperlipidemic patients: biocompatibility, efficacy, and selectivity of direct adsorption of lipoproteins from whole blood*. Artif Organs 2000; 24(2): 81-90

23. BOZBAS, H. et al. *Increased lipoprotein(a) in metabolic syndrome: is it a contributing factor to premature atherosclerosis?* Anadolu Kardiol Derg. PubMed. 2008. 8(2):111-5.
24. BRAUN, N., BOSH, T. *Imunoadsorption, current status and future developments.* Expert Opin Investing Grugs 2000; 9:2017 – 2038
25. BULTAS, J., et al. *Farmakoterapie kardiovaskulárních chorob na počátku třetího milenia – současnost a výhledy.* Remedia. 2002, roč. 12, č. 2, s. 67-76
26. CARSTEN, O., KERN, P., BAMBAUER, R. (2003) *Efficacy and safety of a new whole-blood-low-density lipoprotein apheresis system (Liposorber D) in severe hypercholesterolemia.* Artif. Organs **27**, 1116–1122
27. ČEŠKA R. *Cholesterol a ateroskleróza, léčby dyslipidémie.* Praha : Vydání 1., Triton, 2005
28. ČEŠKA, R. *Diagnostika a léčba hyperlipoproteinemií.* Praha : Triton, 2002. 95 s
29. ČEŠKA, R. *Cholesterol a ateroskleróza.* Praha : Maxdorf, 1999. s. 9-160.
30. DREW, M. J. *Plasmapheresis in the dysproteinemias.* The Apher 2002; 6: 45 – 52
31. EMPEN, K., BRODL, U.C., PARHOFER, K.G. *The effects of three different LDL-apheresis methods on the plasma concentrations of E-selectin, VCAM-1, and ICAM-1.* J Clin Apher 2002;17(1):.38-43.
32. *Food labeling: health claims; garlic, reduction of serum cholesterol, and the risk of cardiovascular disease in adults--FDA.* Interim final rule. Fed Register. PubMed. 1998. 63(119):34110-2.
33. GAŠOVÁ, Z. *Terapeutické hemaferézy.* In: Sborník postgraduálních přednášek z 2. celostátní hematologickotransfuziologické konference. Piešťany : SLS, 2001, s. 97-107.
34. GEISS, H.C., PARHOFER, K.G., DONNER, M.G. *Low density lipoprotein apheresis by membrane differential filtration (cascade filtration).* Ther Apher 1999; 3(3): 199-202.
35. GLASS, C.K., WITZTUM, J.L. *Atherosclerosis. The road ahead.* Cell 2001; 104: 503-16.

36. GOLDSTEIN, J., HOOPS, H., BROWN, M. *Familial hypercholesterolemia*. In: The metabolic and molecular bases of inherited disease. C. Scriver, A. Beaudet, W. Sly, and D. Valle, editors. New York, USA: McGraw-Hill, 2001, p. 2863–2913.
37. GORDON, B.R., et al. *Long-term effects of low-density lipoprotein apheresis using an automated dextran sulfate cellulose adsorption system*. Am. J. Cardiol. 1998, vol. 81, p. 407-411
38. HEINZ, G., JANSEN, M., HORL, W.H. *Prospective randomised cross-over comparison of three LDL-apheresis systems in statin pretreated patients with familial hypercholesterolemia*. Atherosclerosis 2000;151:493-9.
39. HOFFMANN, U., DERFLER, K., HAAS, M. *Effects of combined low-density lipoprotein apheresis and aggressive statin therapy on coronary calcified plaque as measured by computed tomography*. Am J Cardiol 2003;91(4):461-4.
40. HUDEČEK, J. *Laboratorní markery poškození endotelu*. In Abstrakta Pracovních dnů laboratorní hematologie. Hradec Králové, 1998
41. JACOB, B. *Plasmapheresis – principles and practice*. J Indian Med Ass 2001; 99: 364 – 367
42. JOVIN, I.S., TABORSKI, U., MULLER-BERGHAUS, G. *Analysis of the long-term efficacy and selectivity of immunoabsorption columns for low density lipoprotein apheresis*. ASAIO J. 2000;46(3):298-300.
43. JULIUS, U., METRLER, W., PIETZSCH, J. *Intraindividual comparison of two extracorporeal LDL apheresis methods: lipidfiltration and HELP*. Int J Artif Organs. 2002;25(12):1180-8.
44. KAJINAMI, K., MABUCHI, H. *Therapeutic effects of LDL apheresis in the prevention of atherosclerosis*. Curr. Opin. Lipidol. 1999;10:401–406.
45. KELLER, C. *Indication of low-density lipoprotein apheresis in severe hypercholesterolemia and its atherosclerotic vascular complications: dextran sulfate cellulose low-density lipoprotein apheresis*. Ther Apher Dial. 2003;7(3):345-9.

46. KLINGEL, R., ERDTRACHT, B., BERROUSCHOT, J. *Rheopheresis: rheologic, functional, and structural aspects*. Ther Apher. 2000;4(5):348-57.
47. KLINGEL, R., FASSBENDER, C., GOHLEN B. *Clinical studies to implement Rheopheresis for age-related macular degeneration guided by evidence-based-medicine*. Transfus Apheresis Sci. 2003; 29(1):71-84. Citace A.
48. KLINGEL, R., MAUSFELD, P., FASSBENDER, C. *Lipidfiltration - safe and effective methodology to perform lipid-apheresis*. Transfus Apheresis Sci. 2004;30(3):245-54.
49. KLINGEL, R., MUMME, C., FASSBENDER, T. *Rheopheresis in patients with ischemic diabetic foot syndrome. results of an open label prospective pilot trial*. Ther Apher Dial. 2003 Aug;7(4):444-55. Citace B.
50. KOGA, N. *Beneficial effect of aggressive low-density lipoprotein apheresis in a familial hypercholesterolemic patient with severe diabetic scleredema*. Ther Apher. 2001;5(6):506-12.
51. KOLDE, H.J.: *Haemostasis. Physiology, pathology, diagnostics*. Pentapharm Ltd., 2001. 130 s.
52. KROON A.A., et al. *LDL-apheresis atherosclerosis regression study (LAARS): Effect of aggressive versus conventional lipid lowering treatment on coronary atherosclerosis*. *Circulation*. 1998, vol. 93, p. 1826-1835
53. LEES, R.S., CASHIN-HEMPHILL, L., LEES, A.M. *Non-pharmacological lowering of low-density lipoprotein by apheresis and surgical techniques*. *Curr Opin Lipidol*. 1999;10: 575-9.
54. LICHTENSTEIN A. H. et al. *Diet of lifestyle rocommendations 2006 – A scientific statement from american heart association nutrition committee*. American heart association, 2006
55. MABUCHI, H, HIGASHIKATA, T, KAEASHIRI, M. A. *Clinical applications of long-term LDL-apheresis on and beyond refractory hypercholesterolemia*. Transfus Apher Sci. 2004;30(3):233-43.
56. MABUCHI, H., KOIZUMI, J., SHIMIZU, M. *Long-term efficacy of low-density lipoprotein apheresis on coronary heart disease in familial*

- hypercholesterolemia*. Hokuriku-FH-LDL-Apheresis Study Group. Am J Cardiol. 1998;82(12):1489-95
57. MATIC, G., KOHLSCHEIN, P., WALSTAB, U. *Comparison of two filter combinations for low-density lipoprotein apheresis by membrane differential filtration. a prospective crossover controlled clinical study*. Artif Organs. 2002 ;26(4):371-7.
 58. MATIC, G.B., MARTINS, K., AHRENHOLZ, P. *Release of microparticles in LDL apheresis*. Transf. Sci 24, 2001, č.2, s.129-133.
 59. MATSUZAKI, M., HIRAMORI, K., IMAIZUMI, T. *Intravascular ultrasound evaluation of coronary plaque regression by low density lipoprotein-apheresis in familial hypercholesterolemia. the Low Density Lipoprotein-Apheresis Coronary Morphology and Reserve Trial (LACMART)*. J Am Coll Cardiol. 2002;40(2):220-7.
 60. MATÝŠKOVÁ, M., et al. *Hematologie pro zdravotní laboranty: 2.díl, Krevní srážení*. Brno : IDVPZ, 1999. 202 s.
 61. MORIARTY, P.M., GIBSON, C.A. *Low-density lipoprotein apheresis in the treatment of atherosclerosis and other potential uses*. Curr. Atheroscler. Rep. 2001;3:156–162.
 62. MORIARTY, P.M., GIBSON, C.A., SHIH, J. *C-reactive protein and other markers of inflammation among patients undergoing HELP LDL apheresis*. Atherosclerosis. 2001; 158: 495-8.
 63. NISHIMURA S., et al. *Effects of intensive lipid lowering by low-density lipoprotein apheresis on regression of coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia: Japan LDL-apheresis Coronary Atherosclerosis Prospective Study (LCAPS)*. Atherosclerosis. 1999, vol. 144, p. 409-417.
 64. NORDA, R., BERSÉUS, O., STEGMAIR B. *Adverse events and problems in therapeutic hemapheresis*. A report from the Swedish registry, Transfusion Apher Sci 2001; 25: 33 – 41
 65. NOSE, I., USAMI, M.,MALCHESKY PS. *Clinical thermofiltration: initial application*. 1985. Ther Apher. 2000. 4(1):44-6.

66. OMOKAWA S. *Curent topics on centrifugal plasmapheresis technology*. The Apher 2001; 5: 264 – 269
67. PECKA M., et al. *Přehled laboratorní hematologie II*. Praha : Galén, 1998. 152 s
68. PECKA, M., et al. *Přehled laboratorní hematologie III*. Praha : Galén, 1998. 152 s.
69. PISCIOTTA, L. et al. *Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): a phenotypic comparison*. Atherosclerosis. 2006. 188(2):398-405.
70. POKROVSKY, S., STRAUBE, R., AFANASIEVA, O. *Lp(a) apheresis for the treatment of severe CHD patients with Lp(a) hyperlipidemia*. Ther Apher Dial 2005;9(5):A40.
71. PULAWSKI, E., MELLWIG, K.P., BRINKMANN, T. *Influence of single low-density lipoprotein apheresis on the adhesion molecules soluble vascular cellular adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1, and P-selectin*. Ther Apher 2002; 6(3):229-33.
72. RACEK J. et al. *Klinická biochemie*. Praha: Vydání 2., Galén, 2006
73. RECH, J., BERNHART, K., KALDEN, J.R. *Repetitive cyclic LDL-apheresis by the new Lipocollect 200 adsorber in combination with the ADA-sorb Device*. Proceedings 5th World congress of the International Society for Apheresis. Rostock, 4.-7.5. 2005. B-29.
74. RICHTER, W.O., DONNER, M.G., SCHWANDT, P. *Three low density lipoprotein apheresis techniques in treatment of patients with hypercholesterolemia: a long-term evaluation*. Ther Apher 1999;3:203-8.
75. RICHTER W.O., et al. *3-year treatment of familial heterozygous hypercholesterolemia by extracorporeal LDL-immunadsorption with polyclonal apolipoprotein B antibodies*. Metabolism. 1998, vol. 42, p. 888-894
76. ROSSLER, A., BERROUSCHOT, J., BARTHELL H. *Potential of rheopheresis for the treatment of acute ischemic stroke when initiated between 6 and 12 hours* Ther Apher 2000;4(5):358-62.

77. SCALIA, R., APPEL, J.Z. 3rd, LEFER, A.M. *Leukocyte-endothelium interaction during the early stages of hypercholesterolemia in the rabbit: role of P-selectin, ICAM-1, and VCAM-1.* Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18(7):1093-100.
78. SEMB, A.G., UELAND, T., SMILDE, T. *Raised serum levels of soluble CD40 ligand in patients with familial hypercholesterolemia: downregulatory effect of statin therapy.* J Am Coll Cardiol 2003; 41: 275-9.
79. SCHAMBERGER, B.M., GEISS, H.C., RITTER, M.M. *Influence of LDL apheresis on LDL subtypes in patients with coronary heart disease and severe hyperlipoproteinemia.* J Lipid Res 2000;41(5):727-33.
80. SCHETTLER, V., MONAZAHIAN, M., WIELAND, E. *Effect of heparin-induced extracorporeal low-density lipoprotein precipitation (HELP) apheresis on hepatitis C plasma virus load.* Ther Apher 2001;5(5):384-6.
81. SCHUFF - WERNER, P., HOLDT, B. *Selective hemapheresis, an effective new approach in the therapeutic management of disorders associated with rheumatological impairment: mode of action and possible clinical indications.* Artif Org 2002; 6: 117 – 123
82. SCHUFF - WERNER, P. *Clinical long-term results of H.E.L.P.-apheresis.* Z Kardiol 2003; 92: III 28-9.
83. SINZINGER, H., KRITZ, H. *LDL-apheresis improves microalbuminuria in patients with severe familial heterozygous hypercholesterolemia.* Atherosclerosis 1999; 143(1): 223-4
84. SONNTAG, J., EMEIS, M., VORNWALD, A. *Complement activation during plasma production depends on the apheresis technique.* Transfusion medicine 1998; 8: 205-208
85. SOŠKA, V. *Cholesterol a triglyceridy – vztah k ateroskleróze.* In: Soška V. Poruchy metabolismu lipidů. Diagnostika a léčba. Praha: Grada Publishing, 2001, s. 31. ISBN 80-247-0234-7
86. SOVOVÁ, E. *Endoteliální dysfunkce, její patofyziologie a terapie.* Zpravodaj klinické farmakologie a farmacie. 1998, roč. 12, č. 3, s. 9-11.

87. STEFANEC, G.M. *Prädiktionsparameter extrakorporaler Eliminationstherapien an Modell der LDL-apherese*. Disertationsarbeit. Eds.: Copy Team. Köln, Germany: 1999. 118 s. ISBN 80-7262-147-5.
88. STEJSKAL, D. *Ateroskleroza. Etiopatogeneze, diagnostika a léčba*. BMS, 1999. 230 s.
89. STRAUBE, R., GACKLER, D., MUSELMANN, L. *Membrane differential filtration is safe and effective for the long-term treatment of Refsum syndrome - an update of treatment modalities and pathophysiological cognition*. *Transfus Apheresis Sci* 2003; 29: 85-91
90. SUCKFULL, M. *Hearing Loss Study Group. Fibrinogen and LDL apheresis in treatment of sudden hearing loss: a randomised multicentre trial*. *Lancet* 2 Tall A.R., Jiang X., Luo Y., Silver D. 1999 George Lyman Duff memorial lecture: lipid transfer proteins, HDL metabolism, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1185-8.002;360(9348):1811-7.
91. ŠTERN P. et al. *Obecná a klinická biochemie*. Praha, Karolinum, 2005
92. THOMPSON, G.R. *LDL apheresis*. *Atherosclerosis* 2003;167(1):1-13.
93. TSUNODA, S., DAIMON, S., MIYAZAKI, R. *LDL apheresis as intensive lipid-lowering therapy for cholesterol embolism*. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(4):1041-2
94. VALBONESI, M., MORA, F., MORA, R. *Rheopheresis for sudden hearing loss (SHL)*. : *Int J Artif Organs* 2004;27(9):806-9.
95. VELLA, A., PINEDA, A.A., O'BRIEN, T. *Low density lipoprotein apheresis for the treatment of refractory hyperlipidemia*. *Mayo Clin Proc* 2001;76:1039-46
96. VÍTOVEC, J., et al. *Farmakoterapie kardiovaskulárních onemocnění*. Praha : GRADA Publishing, 2000. 243 s.
97. VOJÁČEK, J., et al. *Arteriální a žilní trombóza*. Grada, Praha : 2004; 276 s.
98. VRECKO, K., WALZL, M., REIBNEGGNER G. *Relationship among serum and urine neopterin, fibrinogen, and other serum analytes in atherosclerotic patients and long-term effect of H.E.L.P. therapy*. *Pteridines* 1999; 10(4): 190-196

99. WEINSTEIN, R. *Hypocalcemic toxicity and atypical reactions in therapeutic plasma exchange*. J Clin Apher 2001;16(4):210-1.
100. WIDIMSKÝ, J. *Léčba dyslipidemií a ICHS*. Praha : Triton, 1998. 202 s.
101. YAMAMOTO, A., HARADA – SHIBA, M., KAWAGUCHI, A. *Apheresis technology for prevention and regression of atherosclerosis*, The Apher 2001; 5: 221 – 225
102. ZADÁK, Z., HYŠPLER, R, TICHÁ, A. *Změny absorpce a syntézy cholesterolu – nutriční a metabolické důsledky*. In: *Klinická výživa u postižení ledvin, Metabolismus vápníku a Akutní metabolická péče*. Luboš Sobotka, Vladimír Teplan, Pavel Těšínský, Zdeněk Zadák. Hradec Králové: Nukleus HK[®], 2005, s. 35-36. ISBN 80-86225-69-0.

8. KLÍČOVÁ SLOVA

LDL cholesterol

extrakorporální eliminace

LDL – aferéza

familiární hypercholesterolémie

rheoferéza

Key words

LDL cholesterol

extracorporal elimination

LDL – apheresis

familial hypercholesterolemia

rheopheresis

9. PŘÍLOHY

9.1. Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled lipoproteinů.....	12
Tabulka 2: Metody extrakorporální eliminace LDL cholesterolu	17
Tabulka 3: Klinická charakteristika nemocných	21
Tabulka 4: Výhody a nevýhody LDL - aferézy	28
Tabulka 5: Hladiny lipidů před LDL – aferézou a po ní.....	31
Tabulka 6: Procentuální vyhodnocení poklesu lipoproteinů po LDL – aferéze.....	31
Tabulka 7: Pokles hladin ostatních parametrů při léčbě LDL – aferézou.....	32
Tabulka 8: Vyhodnocení poklesu lipoproteinů při rheoferéze	32
Tabulka 9: Procentuální vyhodnocení poklesu lipoproteinů při rheoferéze.....	33
Tabulka 10: Ukazatele rheologické účinnosti léčby.....	34
Tabulka 11: Ukazatele rheologické účinnosti léčby u nemocných s familiární hypercholesterolémií.....	39

9.2. Seznam grafů

Graf 1: Znázornění hladin LDL cholesterolu před a po LDL – aferéze.....	35
Graf 2: Znázornění hladin triacylglycerolů před a po LDL – aferéze.....	35
Graf 3: Znázornění hladin celkového cholesterolu před a po LDL – aferéze.....	36
Graf 4: Znázornění hladin apolipoproteinu B před a po LDL – aferéze.....	37
Graf 5: Znázornění viskozity krve před a po LDL – aferéze.....	37
Graf 6: Znázornění viskozity plazmy před a po LDL – aferéze.....	38
Graf 7: Znázornění hladin fibrinogenu před a po LDL – aferéze.....	38
Graf 8: Znázornění snížení hladiny TC po LDL – aferéze a rheoferéze.....	41
Graf 9: Znázornění snížení hladiny LDL - cholesterolu po LDL – aferéze a rheoferéze.....	41
Graf 10: Znázornění snížení hladiny triacylglycerolů po LDL – aferéze a rheoferéze.....	42
Graf 11: Znázornění snížení hladiny Lp(a) po LDL – aferéze a rheoferéze.....	43
Graf 12: Znázornění snížení hladiny ApoA po LDL – aferéze a rheoferéze.....	43
Graf 13: Znázornění snížení hladiny ApoB po LDL – aferéze a rheoferéze.....	44

9.3. Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma imunoadsorpce LDL-cholesterolu	24
Obrázek 2: Princip imunoadsorpce	25
Obrázek 3: Princip regenerace kolon (desorpce)	26
Obrázek 4: Schéma LDL - aferézy	27
Obrázek 5: Princip filtrace LDL-cholesterolu	28
Obrázek 6: Schéma rheoferetické léčby.....	30
Obrázek 7: Separátor v praxi.....	63
Obrázek 8: Cobe Spectra.....	64

9.4. Seznam užitých zkratek a symbolů

Fw	sedimentace
Gly	glykémie
Na	sodík
K	draslík
Cl	chlór
Ca	vápník
P	fosfor
urea	močovina
Krea	kreatinin
KM	kyselina močová
Bil	bilirubin
ALT	alaninaminotransferáza
AST	aspartátaminotransferáza
CK	kreatinkináza
GMT	γ -glutamyltransferáza
ALP	alkalická fosfatáza
TC	celkový cholesterol
LDL	LDL cholesterol
HDL	HDL cholesterol
TAG	triacylglyceroly
Lp	lipoprotein (a)
AA	apolipoprotein A
AB	apolipoprotein B
TP	celková bílkovina
alb	albumin
IgG	imunoglobulin G

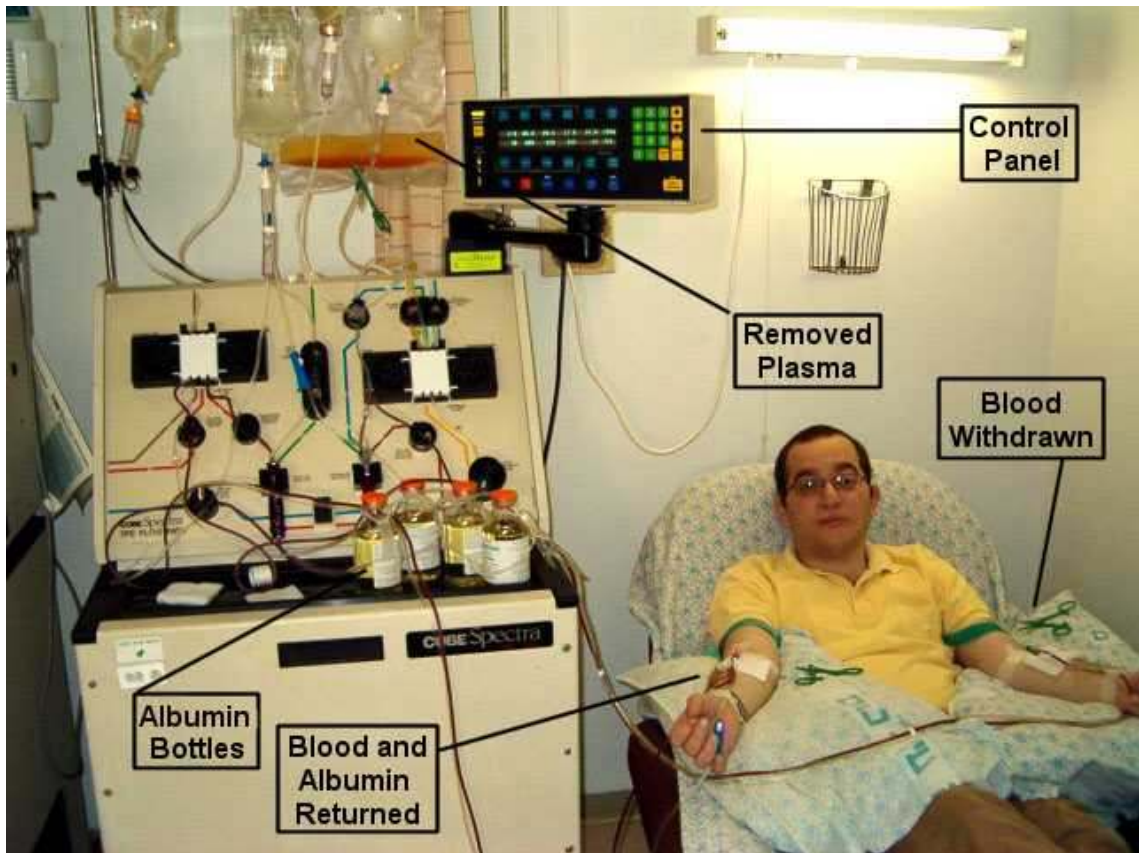
IgA	imunoglobulin A
IgM	imunoglobulin M
Le	leukocyty
Hb	hemoglobin
Ht	hematokrit
MCV	střední objem ery
trombo	trombocyty
MPV	střední objem trombocytu
fibrin	fibrinogen
viskPL	viskozita plasmy
viskKR	viskozita krve
IA	imunoadsorbce
DSA	adsorpce na dextransulfát
PDW	šíře distribuce trombocytů
PCT	destičkový hematokrit
PLT	počet krevních destiček

9.5. Přehled referenčních rozmezí potřebných klinicko–biochemických a hematologických vyšetření (20, 21)

	referenční hodnoty
Fw	věk do 50-ti let: muži 2 – 5 mm /1 hod ženy 3 – 8 mm /1 hod věk nad 50 let: muži 3 – 9 mm /1 hod ženy 7 – 12 mm /1 hod
Gly	3,6 - 6,1 mmol/l
Na	132 - 145 mmol/l
K	3,8 - 5,2 mmol/l
Cl	98 - 108 mmol/l
Ca	2,1 - 2,6 mmol/l
P	0,7 - 1,6 mmol/l
urea	2,5 - 8,3 mmol/l
Krea	věk 15-60: m- 50 - 120 μ mol/ ž- 40 - 110 μ mol/l věk 61-80: m- 50 - 130 μ mol/l ž- 40 - 120 μ mol/l
KM	muži 200 - 420 μ mol/l ženy 140 - 340 μ mol/l
Bil	< 22 μ mol/l
ALT	< 0,67 μ kat/l
AST	< 0,67 μ kat/l
CK	muži < 3,2 μ kat/l ženy < 2,4 μ kat/l
GMT	muži < 1,77 μ kat/l

	ženy < 1,10 µkat/l
ALP	< 2,3 µkat/l
TC	3,5 - 5,2 mmol/l
LDL	< 3,4 mmol/l
HDL	muži > 1,4 mmol/l ženy > 1,6 mmol/l
TAG	0,9 - 1,7 mmol/l
Lp	< 0,3 g/l
AA	muži > 1,4 g/l ženy > 1,6 g/l
AB	< 0,9 g/l
TP	62 - 82 g/l
alb	35 - 53 g/l
IgG	7 - 16 g/l
IgA	0,7 - 4,0 g/l
IgM	0,4 - 2,3 g/l
Le	3.8 – 10.0 x 10 ⁹ /l
Hb	muži 135 – 175 g/l ženy 120 – 165 g/l
Ht	muži 0.40 – 0.54 ženy 0.35 – 0.45
MCV	80 – 95 fl
trombo	140 – 440 x 10 ⁹ /l
MPV	7.8 – 11.0 fl
fibrin	2.0 – 4.0 g/l
viskPL	1.7 – 2.3 mPa.s
viskKR	1.5 – 2.5 mPa.s

Obrázek 7: Separátor v praxi



Obrázek 8: Cobe Spectra

