Klinička zapažanja
Clinical observations

TROGODIŠNJI DJEČAK – HOMOZIGOT ZA PORODIČNU HIPERKOLESTEROLEMIJU

THREE-YEAR-OLD BOY – A HOMOZYGOTE FOR FAMILIAR HYPERCHOLESTEROLEMIA

MIROSLAV DUMIĆ, ANITA ŠPEHAR UROIĆ, IGOR FRANCETIĆ, ZVONIMIR PURETIĆ, DANICA MATIŠIĆ, PETAR KES, MARTINA MIKECIN, ŽELJKO REINER*

Deskriptori: Obiteljska hiperkolesterolemija – genetika, krv, liječenje; Kolesterol, LDL – u krvi; Homozigot

Sažetak. Homozigotni oblik porodične hiperkolesterolemije (PH) uzrokovan mutacijama receptora za lipoproteine male gustoće (low density lipoprotein – LDL) rijetka je autosomno-dominantno nasljedna bolest s incidencijom oko 1/1 000 000. Karakterizirana je izrazitim povišenjem razine ukupnog i LDL-kolesterola te pojavom kožnih ksantoma već u male djece. Bolesnici su životno ugroženi od ranog djetinjstva zbog preuranjenog razvoja ateroskleroze i pojave koronarne bolesti, a njihovo je liječenje velik problem, posebno u našim uvjetima. Prikazujemo trogodišnjeg dječaka s kliničkim i laboratorijskim osobitostima homozigotnog oblika autosomno-dominantne PH (tuberozni ksantomi i vrlo visoka razina ukupnog i LDL-kolesterola). Heterozigotna hiperkolesterolemija nađena je u oba roditelja te u nekoliko članova šire obitelji. U dječaka se provodilo liječenje simvastatinom, a zatim i atorvastatinom, no bez značajnijeg uspjeha. Planira se započeti liječenje LDL-aferezom koja predstavlja terapiju izbora u djece homozigota za PH.

Descriptors: Hyperlipoproteinemia type II – genetics, blood, therapy; Cholesterol, LDL – blood; Homozygote

Summary. Homozygous familial hypercholesterolemia (FH) is a rare autosomal dominant disorder caused by mutations in the low-density-lipoprotein (LDL) receptor gene. It occurs with a frequency of approximately 1 per million persons worldwide. Clinically, homozygous FH is associated with extremely elevated levels of LDL cholesterol and cutaneous xanthomas that develop in early childhood. These children are at risk of extremely early coronary events and death from myocardial infarction caused by premature generalized atherosclerosis. Their medical treatment is very complex, associated with various problems and complications. We describe a 3-year-old boy with clinical signs of homozygous FH (elevated LDL-cholesterol levels and xanthomas). Heterozygous hypercholesterolemia was found in his parents and some other family members. The boy has been treated with simvastatin and atorvastatin, but without reaching the treatment goals. LDL apheresis is planned as the treatment of choice for homozygous children with FH.

Liječ Vjesn 2007;129:130–133

Homozigotni oblik porodične hiperkolesterolemije (PH) rijetka je bolest s učestalošću od oko 1/1 000 000 novorođenih, za razliku od relativno čestog heterozigotnog oblika bolesti čija je incidencija 1/500.[1] U homozigota za PH razine ukupnog kolesterola i kolesterola koji je dio lipoproteina male gustoće (low density lipoprotein – LDL), obično su iznad 15 mmol/L i ako nisu pravilno liječeni, u njih dolazi do preuranjenog razvoja koronarne bolesti te obično umru od infarkta miokarda prije 30. godine života.[2,3] Nakupine lipida u koži (ksantomi) u tih se bolesnika obično razviju prije 5. godine života i nerijetko su prvi znak bolesti,[4] a mogu se naći i u rožnici (»arcus corneae«) te u području aortne valvule gdje dovode do aortne stenoze.[3,5]

Bolest je poglavito uzrokovana mutacijama gena odgovornog za strukturu i funkciju staničnog receptora za LDL smještenog na 19. kromosomu koje rezultiraju smanjenim brojem ili potpunim nedostatkom receptora,[3,6,7] odnosno poremećajima u njihovoj funkciji (nemogućnost vezanja LDL-a, poremećaj u njihovu prijenosu u stanicu te otpuštanju LDL-a u stanici i recikliranju receptora).[2,8,9] Nedavno je otkriveno da PH mogu uzrokovati i promjene na 1. i 10. kromosomu, a opisan je i recesivan oblik bolesti o kojemu se zna relativno malo.[3] Bez obzira na to da li se radi o manjku ili poremećaju funkcije receptora za LDL, ulazak LDL-čestica u stanice je onemogućen, što s jedne strane uzrokuje njihovo nakupljanje u krvi, a s druge strane izostankom negativne povratne sprege dolazi do njihove nekontrolirane sinteze, što u konačnici dovodi do izrazito povišenih razina LDL-kolesterola u krvi bolesnika.[1,10]

Prikazujemo trogodišnjeg dječaka, homozigota za PH koja do sada nije u nas opisana.

Prikaz bolesnika

Dječak je prvo dijete u obitelji u kojoj otac, majka i očevi roditelji imaju hiperkolesterolemiju (tablica 1). Hiperkolesterolemiju imaju navodno i očeva sestra te majčini majka i djed, koji nam nisu bili dostupni. Rođen je nakon 37 tjedana

* **Klinika za pedijatriju Rebro, Medicinski fakultet i KBC Zagreb** (prof. dr. sc. Miroslav Dumić, dr. med.; Anita Špehar Uroić, dr. med.), **Klinika za unutrašnje bolesti, Medicinski fakultet i KBC Zagreb** (prof. dr. sc. Igor Francetić, dr. med.; prof. dr. sc. Željko Reiner, dr. med), **Zavod za dijalizu, Medicinski fakultet i KBC Zagreb** (prof. dr. sc. Petar Kes, dr. med.; prim. mr. sc. Zvonimir Puretić, dr. med.), **Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb** (dr. sc. Danica Matišić, dipl. ing. med. biokem.), **Privatna pedijatrijska ordinacija, Zadar** (Martina Mikecin, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. M. Dumić, Klinika za pedijatriju Rebro, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb

Primljeno 19. lipnja 2006., prihvaćeno 24. studenoga 2006.

Tablica 1. *Laboratorijski nalazi u dječakovih roditelja, bake i djeda po ocu*
Table 1. *Laboratory findings in the boy's parents, and father's mother and father*

	Otac Father	Majka Mother	Baka Father's mother	Djed Father's father	Preporučene vrijednosti[28] Recommended values[28]
Ukupni kolesterol (mmol/L) Total cholesterol	9,0	8,2	9,5	7,5	< 5,0
Trigliceridi (mmol/L) Triglycerides	1,48	0,45	0,98	0,86	1,7
HDL-kolesterol (mmol/L) HDL-cholesterol	0,87	1,53	1,21	1,32	muški/males >1,0 ženski/females >1,2
LDL-kolesterol (mmol/L) LDL-cholesterol	7,68	6,33	7,86	5,82	< 3,0
Lipoprotein (a) (g/L) Lipoprotein a	0,20	0,04	0,13	0,14	< 0,3
Apo A1 (g/L) Apo A1	1,22	1,46	–	–	1,1 – 1,9
Apo B (g/L) Apo B	1,93	1,69	–	–	0,7 – 1,5



Slika 1. *Ksantomi na rukama dječaka s homozigotnom familijarnom hiperkolesterolemijom*
Figure 1. *Xanthomas on the arms of the boy with homozygous familial hypercholesterolemia*

uredne trudnoće, rodna masa 2480 g, rodna duljina 47 cm. Uredno se tjelesno i psihomotorički razvijao. U dobi od 6 mjeseci roditelji su na koži dječaka zamijetili pojavu izraslina narančaste boje, prvo u području obaju gležanja, a zatim i na ručnim zglobovima i laktovima. Postupno je došlo do progresije veličine i broja kožnih promjena te je dječaka pregledao dermatolog. Nakon što je patohistološkom analizom izraslina dokazano da se radi o ksantomima, a u krvi izmjerena vrlo visoka razina ukupnog kolesterola od 29 mmol/L, dječak je upućen k nama radi daljnje obrade.

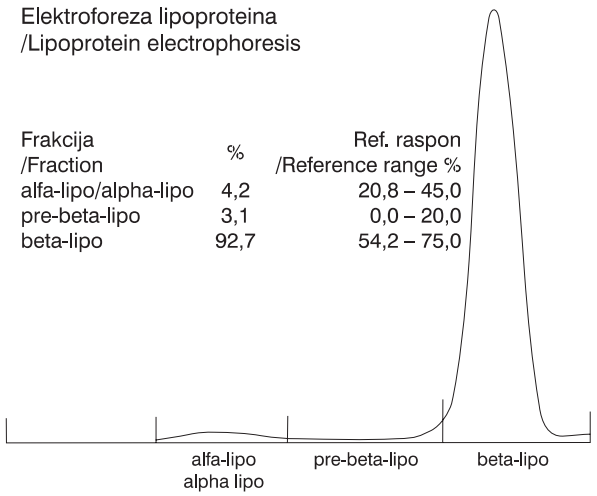
Kod dolaska u Zavod za endokrinologiju i dijabetes Klinike za dječje bolesti Rebro bio je u dobi od 3 godine, težak 13,5 kg (10 cent.), visok 91,5 cm (10 cent.). Uočeni su multipli ksantomi na koži udova veličine od 0,5 do 3 cm u području obaju ručnih i skočnih zglobova, obaju lakata, Ahilove tetive desno te dorzalne strane drugoga metakarpofalangealnog zgloba desno i trećeg metakarpofalangealnog zgloba lijevo (slika 1). Izrasline su narančaste boje i tvrđe konzistencije. Nije imao drugih osobitosti u kliničkome statusu.

Rezultati mjerenja razine lipida u krvi potvrdili su da dječak ima homozigotni oblik FH (tablica 2), a u prilog dijagnozi govorila je elektroforeza lipoproteina u serumu na agarozi (slika 2). Učinjena je i DNA-analiza gena za apolipoprotein B (apoB) Light Cycler tehnologijom (LC-PCR) kojom je u bolesnika identificiran genotip R/R'. Ultrazvučnim pregledom srca i velikih krvnih žila nije nađeno znakova aterosklerotskih promjena u području korijena aorte niti su

Tablica 2. *Laboratorijski nalazi u dječaka*
Table 2. *Laboratory findings in the boy*

	Prije početka liječenja: Before the start of the treatment:	Uz liječenje simvastatinom (10 mg) During simvastatin therapy (10 mg)		Uz liječenje atorvastatinom (10, 20 mg) During atorvastatin therapy (10, 20 mg)		Preporučene vrijednosti.[28,29] * Recommended values[28,29] *
		nakon: 3 mj after: 3 mo	6 mj/6 mo	nakon:3 mj after: 3 mo	6 mj/6 mo	
Ukupni kolesterol (mmol/L) Total cholesterol	16,8 – 30,0	22,0	23,2	21,5	22,84	< 4,7
Trigliceridi (mmol/L) Triglycerides	1,52 – 2,04	2,48	2,1	1,82	1,16	< 1,7
HDL-kolesterol (mmol/L) HDL-cholesterol	2,0 – 3,1	2,8	2,9	2,62	3,20	muški/male > 1,0 ženski/female >1,2
LDL-kolesterol (mmol/L) LDL-cholesterol	14,1 – 26,0	18,1	20,3	18,1	17,14	< 3,0
Lipoprotein a (g/L) Lipoprotein a	0,20	0,24	0,21			< 0,3
Apo A1 (g/L) Apo A1	0,86 g/L					0,42 – 1,94
Apo B (g/L) Apo B	5,58 g/L					0,74 – 1,5

* preporučene vrijednosti kolesterola odnose se na djecu, dok se ostale preporučene vrijednosti odnose na odrasle
/recommended cholesterol values pertain to children, while other recommended values pertain to adults



Slika 2. *Elektroforeza lipoproteina u serumu na agarozi*
Figure 2. *Agarose gel lipoprotein electrophoresis*

oftalmološkim pregledom uočeni kornealni depoziti. Pregledom obaju roditelja nisu nađeni ksantomi, a prema anamnestički dostupnim podacima navodno nitko u obitelji nije imao ksantome niti infarkt miokarda.

Sekundarna hiperkolesterolemija isključena je nakon što je dokazana uredna endokrina i egzokrina funkcija gušterače, kao i uredna funkcija jetre, bubrega i štitnjače. Kako su u dječaka izmjerene i malo povišene razine triglicerida, učinjena je i genotipizacija apolipoproteina E (apoE) (također s pomoću LC-PCR), no nađeni su E3 i E4-aleli te je isključena porodična disbetalipoproteinemija kao mogući uzrok poremećaja.

U dječaka je uz dijetu s malo kolesterola uvedena terapija simvastatinom u dozi od 10 mg na dan, no bez značajnijeg učinka. Nakon toga umjesto simvastatina uzima atorvastatin, s tim da je dnevna doza postupno povisivana od 10 mg na početku liječenja do 30 mg koliko prima sada, no i dalje ne dolazi do značajnijeg pada razine kolesterola u krvi (tablica 2).

Rasprava

U diferencijalnoj dijagnozi homozigotne PH treba imati na umu još dva poremećaja koja mogu dovesti do povišenih razina kolesterola u krvi.

Mutacija gena za apoB-100, glavnog liganda LDL-receptora, fenotipski se gotovo ne razlikuje od heterozigotnog oblika PH, a očituje se tek nešto blažom kliničkom slikom.[1,2,8,11] Ipak, kako je razina ukupnog i LDL-kolesterola bitno viša u bolesnika s homozigotnim oblikom PH, taj je oblik bolesti lako razlučiti. S druge strane, bolesnici s autosomno-recesivnim oblikom PH mogu imati izrazito visoke razine kolesterola, usporedive s onima u autosomno-dominantnoj homozigotnoj PH,[12,13] no razina kolesterola u roditelja tih bolesnika je normalna. Oni uglavnom puno bolje reagiraju na dijetetske mjere i liječenje lijekovima pa u nekih od njih to može biti dovoljno za dostizanje ciljnih koncentracija lipida u krvi.[12,13]

U dvojbenim slučajevima, posebice u heterozigota s PH, dijagnoza se može potvrditi ispitivanjem aktivnosti LDL-receptora u kulturi fibroblasta ili DNA-analizom kojom se dokazuje jedna od više od 700 do sada opisanih mutacija. Osim potvrde dijagnoze, takvim se ispitivanjima može točno odrediti mjesto poremećaja u receptoru.[2,3,14]

U našeg bolesnika razine ukupnog i LDL-kolesterola mnogo su više od onih koje nalazimo u heterozigota za PH ili u bolesnika s poremećajem apoB-100, a potonji poremećaj isključen je i DNA-analizom. Kako oba roditelja imaju značajnu hiperkolesterolemiju, s velikom vjerojatnošću isključili smo i autosomno-recesivni oblik bolesti.

Valja napomenuti da je u dječaka apoE-genotipizacijom nađen genotip apo E3/4 te da se apo E4-aleli povezuju uz povećani LDL-kolesterol i smanjenu razinu HDL-kolesterola pa iako se time ne može objasniti izrazito visoka razina LDL-kolesterola, moguć je dodatni utjecaj spomenutog genotipa.

Ksantomi, posebno u djece, mogu biti prvi znak bolesti, s time da se katkad vide već i u novorođenačkoj dobi.[4,5] I u našeg bolesnika ksantomi su uočeni vrlo rano, već u dobi od 6 mjeseci, no kako se radi o uistinu rijetkoj pojavi u toj životnoj dobi, prošle su gotovo dvije godine do postavljanja konačne dijagnoze.

Iako se PH obično opisuje kao poremećaj obilježen izoliranom hiperkolesterolemijom bez povišene razine triglicerida u krvi, u našeg je bolesnika u nekoliko mjerenja dokazana i blaža hipertrigliceridemija (tablica 2). Ne radi se međutim o iznimci, jer je hipertrigliceridemija uočena i u oko 10% drugih bolesnika s homozigotnom PH.[15] To je zbog toga jer se na receptor za LDL osim apoB-100 veže i apoE koji sadržavaju drugi lipoproteini, posebice lipoproteini srednje gustoće (intermediary density lipoprotein – IDL), čestice nastale razgradnjom lipoproteina vrlo male gustoće (very low density lipoprotein – VLDL) pa je receptor za LDL dijelom odgovoran i za njihovo uklanjanje iz krvi.[1,8] Osim spomenutog, uočena je i povećana sinteza VLDL i IDL-čestica ponajprije uvjetovana povećanom sintezom apoB koji se ugrade u VLDL, a koja je dokazana u bolesnika s homozigotnom PH, i to posebno u onih u kojih potpuno nedostaje funkcija LDL-receptora (tzv. »receptor negativni«-bolesnici s PH). Na osnovi dosadašnjih istraživanja smatra se da receptor za LDL ima ulogu u djelomičnom uklanjanju apoB u stanicama neposredno nakon njegove sinteze, a prije sekrecije iz stanica, tako da u slučaju njegove afunkcije dolazi do pojačanog lučenja apoB, posebice onog u sastavu VLDL-čestica.[15–17] Kako VLDL uglavnom sadržavaju trigliceride, a ovi se dijelom nalaze i u sastavu IDL-a, spomenutim mehanizmima može se objasniti njihova povišena razina u bolesnika s homozigotnom PH.

Ozbiljnost bolesti vezana je uz njezine komplikacije, ponajprije pojavu koronarne bolesti u ranoj životnoj dobi i posljedične opetovane infarkte miokarda od kojih se onaj koban za bolesnika obično dogodi u prva dva desetljeća života.[3] Pri tome se rizik od kardiovaskularnog incidenta značajno povećava s trajanjem hiperkolesterolemije. Jedini način za smanjenje rizika i odgodu smrtonosnih komplikacija je normalizacija razine ukupnog i LDL-kolesterola u krvi, no to na žalost nije moguće postići konzervativnim mjerama. Zbog toga što su LDL-receptori afunkcionalni, statini ni u visokim dozama najčešće nemaju značajnijeg učinka,[18,19] što je slučaj i u našeg bolesnika. Kombinacijama statina s inhibitorom apsorpcije kolesterola (ezetimib)[20] ili s inhibitorom acil koenzim A-kolesterol aciltransferaze (ACAT)[21] katkad se postiže mjerljiv, no ni približno dovoljan učinak za zadovoljavajuću kontrolu bolesti. Kirurškim postupcima kao što su portokavalni *shunt* i transplantacija jetre može se postići smanjenje razine ukupnog i LDL-kolesterola, povlačenje ksantoma i smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti, no zbog svoje invazivnosti i mogućih

komplikacija to danas više nisu metode izbora u liječenju bolesnika s homozigotnim oblikom PH.[22–24]

Jedini prihvatljiv način liječenja sa zadovoljavajućim učinkom jest LDL-afereza koja se temelji na odstranjenju lipoproteinskih čestica koje sadržavaju apoB-100.[19,25–27] Postupak obično traje oko 3 sata, a mora se provoditi 1–2 puta na tjedan. LDL-afereza se u djece još uvijek radi samo u manjem broju specijaliziranih centara u svijetu. Čim budu stvorene tehničke mogućnosti, i mi namjeravamo započeti s primjenom LDL-afereze u našeg bolesnika s obzirom na to da je to jedina terapija za koju se očekuje da će imati učinak. U međuvremenu, u dječaka se provodi terapija atorvastatinom, no prema očekivanjima, bez postizanja ciljnih koncentracija lipida u krvi (tablica 2).

LITERATURA

1. *Ignacio García-Álvarez, Sergio Castillo, Pilar Mozas i sur.* Differences in clinical presentation between subjects with a phenotype of familial hypercholesterolemia determined by defects in the LDL-receptor and defects in Apo B-100. Rev Esp Cardiol 2003;56:769–74.
2. *Bertolini S, Cassanelli S, Garuti R i sur.* Analysis of LDL receptor gene mutations in Italian patients with homozygous familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19(2):408–18.
3. *Reiner Ž.* Genski poremećaji serumskih lipoproteina. Paediatr Croat 2005;49:133–9.
4. *Lugo-Somolinos A, Sanchez JE.* Xanthomas: a marker for hyperlipidemias. Bol Asoc Med P R 2003;95(4):12–6.
5. *Srimannarayana J, Varma RS, Satheesh S, Anilkumar R, Balachander J.* Supravalvular aortic stenosis and coronary ostial stenosis in homozygous familial hypercholesterolemia. Indian Heart J 2004;56:152–4.
6. *Motulsky AG.* Genetic aspects of familial hypercholesterolemia and its diagnosis. Arteriosclerosis 1989;9(Suppl 2):I3–7.
7. *Goldstein JL, Dana SE, Brunschede GY, Brown MS.* Genetic heterogeneity in familial hypercholesterolemia: evidence for two different mutations affecting functions of low-density lipoprotein receptor. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72(3):1092–6.
8. *Miserez AR, Keller U.* Differences in the phenotypic characteristics of subjects with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15(10):1719–29.
9. *Stein O, Weinstein DB, Stein Y, Steinberg D.* Binding, internalization, and degradation of low density lipoprotein by normal human fibroblasts and by fibroblasts from a case of homozygous familial hypercholesterolemia. Proc Natl Acad Sci USA 1976;73(1):14–8.
10. *Hoeg JM, Demosky SJ Jr, Schaefer EJ, Starzl TE, Brewer HB Jr.* Characterization of hepatic low density lipoprotein binding and cholesterol metabolism in normal and homozygous familial hypercholesterolemic subjects. J Clin Invest 1984;73(2):429–36.
11. *Pimstone SN, Defesche JC, Clee SM, Bakker HD, Hayden MR, Kastelein JJ.* Differences in the phenotype between children with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997;17(5):826–33.
12. *Pisciotta L, Oliva CP, Pes GM i sur.* Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): A phenotypic comparison. Atherosclerosis 2005 Dec 8; [Epub ahead of print].
13. *Rodenburg J, Wiegman A, Vissers MN, Kastelein JJP, Stalenhoef AFH.* A boy with autosomal recessive hypercholesterolaemia. Neth J Med 2004;61 (3):89–93.
14. *Semenkovich CF, Ostlund RE Jr, Levy RA, Osa SR.* Low density lipoprotein receptor activity in homozygous familial hypercholesterolemia fibroblasts. J Biol Chem 1982;257(21):12857–6.
15. *Zulewski H, Ninnis R, Miserez AR, Baumstark MW, Keller.* VLDL and IDL apolipoprotein B-100 kinetics in familial hypercholesterolemia due to impaired LDL receptor function or to defective apolipoprotein B-100. J Lipid Res 1998;39(2):380–7.
16. *Millar JS, Maugeais C, Ikewaki K i sur.* Complete deficiency of the low-density lipoprotein receptor is associated with increased apolipoprotein B-100 production. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005;25(3): 560–5.
17. *Tremblay AJ, Lamarche B, Ruel IL i sur.* Increased production of VLDL apoB-100 in subjects with familial hypercholesterolemia carrying the same null LDL receptor gene mutation. J Lipid Res 2004;45(5): 866–72.
18. *Demetriou K, H'Maltezou E, Pierides AM.* Familial homozygous hypercholesterolemia: effective long-term treatment with cascade double filtration plasmapheresis. Blood Purif 2001;19(3):308–13.
19. *Naoumova RP, Thompson GR, Soutar AK.* Current management of severe homozygous hypercholesterolaemias. Curr Opin Lipidol 2004; 15(4):413–22.
20. *Gagne C, Gaudet D, Bruckert E. Ezetimibe Study Group.* Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. Circulation 2002;105(21):2469–75.
21. *Raal FJ, Marais AD, Klepack E, Lovalvo J, McLain R, Heinonen T.* Avasimibe, an ACAT inhibitor, enhances the lipid lowering effect of atorvastatin in subjects with homozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis 2003;171(2):273–9.
22. *McNamara DJ, Ahrens EH Jr, Kolb R i sur.* Treatment of familial hypercholesterolemia by portacaval anastomosis: effect on cholesterol metabolism and pool sizes. Proc Natl Acad Sci USA 1983;80(2):564–8.
23. *Moyle M, Tate B.* Homozygous familial hypercholesterolaemia presenting with cutaneous xanthomas: response to liver transplantation. Austral J Dermatol 2004;45(4):226–8.
24. *Lopez-Santamaria M, Migliazza L, Gamez M i sur.* Liver transplantation in patients with homozygotic familial hypercholesterolemia previously treated by end-to-side portocaval shunt and ileal bypass. J Pediatr Surg 2000;35(4):630–3.
25. *Sachais BS, Katz J, Ross J, Rader DJ.* Long-term effects of LDL apheresis in patients with severe hypercholesterolemia. J Clin Apheresis 2005;20(4):252–5.
26. *Meier P, Blanc E.* Long-term efficacy of lipoprotein apheresis in homozygous familial hypercholesterolaemia. Nephrol Dial Transplant 2000; 15(5):738–40.
27. *Hershcovici T, Schechner V, Orlin J, Harell D, Beigel Y.* Effect of different LDL-apheresis methods on parameters involved in atherosclerosis. J Clin Apheresis 2004;19(2):90–7.
28. *European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force*. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2003; 10(Suppl 1):S2–S63.
29. *Consensus Conference* (1985) Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. JAMA 1985;235:2080–6.