ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

© М.Зуска, 1997 г.
УДК 615.38:616-008.9.002

М. Зуска

ЛПНП-АФЕРЕЗ: ТЕХНИКО-ОПЕРАТИВНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ H.E.L.P. - СИСТЕМЫ

Фирма "Б. Браун", Дюссельдорф, Германия

Ключевые слова: гиперлипопротеидемия, лечение, аферез.

Key words: hyperlipoproteinemia, treatment, apheresis.

Введение

Методика H.E.L.P. (гепарин - индуцированная экстракорпоральная преципитация липопротеидов низкой плотности) заключается в селективном аферезе, при котором ЛПНП-фракция липопротеидов при контакте с гепарином в кислой среде выпадает в осадок и удаляется из организма. Наряду со снижением уровня липопротеидов низкой плотности отмечается выраженное уменьшение концентраций фибриногена (Фиб) и липопротеида (а) [ЛП(а)]. Таким образом, обработка только одного объема плазмы крови сопровождается уменьшением концентрации атерогенных компонентов примерно на 60 - 65%. Одновременно с гиполипидемическим эффектом регистрируется улучшение реологических свойств крови, обусловленное снижением уровня фибриногена, уменьшением агрегации, нормализацией липидного состава эритроцитарной мембраны [4, 6]. Комплексное действие H.E.L.P.-афереза приводит к замедлению процессов атерогенеза и способствует обратному развитию атеросклеротических бляшек [7]. Основными показаниями для применения этого метода лечения, согласно немецкому руководству (NUB-Richtlinien), являются выраженные нарушения липидного обмена (семейная гиперлипидемия, характеризующаяся гиперхолестеринемией, резистентной к терапии диетой в сочетании с медикаментами). Учитывая благоприятное воздействие H.E.L.P.-афереза на реологические свойства крови, данный метод экстракорпоральной обработки плазмы крови можно использовать для лечения заболеваний, сопровождающихся нарушениями микроциркуляции.

Технико-оперативные аспекты

При проведении процедуры H.E.L.P.-афереза обычно используется веновенозная техника, при которой в большинстве случаев кровь забирается из локтевой вены с одной стороны и возвращается в контралатеральную. Для венепункции используются обычные диализные иглы 15-18 G.

Для антикоагуляции используется постоянная гепаринизация с начальными дозами гепарина 40 МЕД/кг массы тела и поддерживающей дозой 20 МЕД/кг/ч [1]. Эти дозы, однако, должны подбираться индивидуально в соответствии с состоянием пациента (возраст, наличие заболеваний печени, лихорадки и т.п.) и скорости перфузии крови. Контроль антикоагуляции осуществляется посредством определения АПТВ (активированое парциальное тромбопластиновое время) или АВС (активированное время свертывания), терапевтические значения которых должны быть 100-150 с и 150-200 с соответственно. Примерно за 30 мин до окончания процедуры введение гепарина прекращается, для того чтобы к концу процедуры показатели антикоагуляции были ниже 100 с для АПТВ и ниже 150 с для АВС.

Полианионы имеют свойство образовывать с белками нерастворимые комплексы. Образование определенных видов комплексов зависит от различных факторов, таких как молекулярная структура белка, тип полианиона, наличие двухвалентных катионов и уровня pH. Гепарин как полианион в присутствии двухвалентных катионов Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} образовывает с ЛПНП и липопротеидом очень низкой плотности (ЛПОНП) нерастворимые

агрегаты. При pH 5,12 молекула гепарина имеет больше локусов связывания с белковыми частями ЛПНП. Апопротеин B100 (Апо B100), Фиб и ЛП(а) образуют сеть нерастворимых агрегатов, которые далее могут быть легко отфильтрованы. ЛПНП-аферез с использованием H.E.L.P.-системы состоит из следующих основных этапов:

1. Сосудистый доступ. Обычно используется вено-венозная техника, при которой забор крови осуществляется из локтевой вены со скоростью 60 - 100 мл/мин (только 25% пациентов нуждаются в наложении фистулы как сосудистого доступа). При помощи плазмофильтра от крови отделяется плазма со скоростью 20 - 35 мл/мин. Фильтр состоит из полых полипропиленовых волокон с толщиной стенки 150 мкм, поверхностью 0,2 м^2 и порами размером около 0,55 мкм. У такого фильтра максимальная скорость сепарации плазмы 30 - 40 мл/мин. С целью предотвращения механического гемолиза скорость плазмотока определяется уровнем давления плазмы.

2. После сепарации плазмы форменные элементы крови возвращаются пациенту через другой сосудистый доступ (как правило, в локтевую вену с противоположной стороны), а плазма смешивается с ацетатным буфером pH=4,85, содержащим гепарин в концентрации 100 МЕД/мл. В смеси плазма/буфер pH достигает 5,12. В этих условиях преципитация ЛПНП, Фиб и ЛП(а) происходит очень быстро. Образовавшиеся агрегаты удаляются фильтрованием, после чего плазматические концентрации вышеуказанных веществ снижаются до нуля. Преципитационный фильтр состоит из полимерной мембраны с порами размером около 0,4 мкм.

3. Перед возвратом плазмы пациенту из нее необходимо удалить чрезмерное количество гепарина и ацетатный буфер. Для этого плазма проходит сначала через ионообменный патрон, активно связывающий весь гепарин, оставшийся после преципитации. Ионообменник состоит из DEAE целлюлозы с положительным зарядом, имеющего возможность связать до 300 000 МЕД гепарина. Селективное удаление гепарина возможно потому, что при уровне pH=5,12 отрицательный электрический заряд имеют только его молекулы.

4. После удаления гепарина плазма подвергается диализу с бикарбонатным буфером. В результате pH восстанавливается до физиологических значений, а ацетат удаляется ультрафильтрацией. Диализ проводится при помощи волокнистого фильтра с полыми волокнами Hemophan'a, с поверхностью 1,2 м^2. После диализа полностью восстановленная плазма возвращается пациенту вместе с клетками крови из плазмофильтра.

Очень важным аспектом этого метода лечения является то, что все действия с плазмой производятся на экстракорпоральном этапе. Все изменения в плазме обратимы. Перед тем, как пациенту возвратить плазму, ее можно восстановить до физиологических параметров без каких-либо необратимых повреждений, поскольку избыток гепарина полностью удаляется ионообменным патроном, а при уровне pH=5,12 денатурации белков не происходит.

Аппаратура, с помощью которой проводится лечение методом H.E.L.P., называется Plasmat secura (B. Braun Melsungen AG). Эта аппаратура состоит из 4 модулей, которые осуществляют и регулируют все фазы лечения:

1. Модуль управления с монитором позволяет оператору призводить установку рабочих параметров и осуществлять контроль за ходом лечения (выведение на монитор сообщений и сигнализации).

2. Кровяной модуль является первичной системой плазмафереза и контролирует циркуляцию крови, сепарацию плазмы и возврат восстановленной плазмы пациенту.

3. Каскадный модуль служит вторичной системой плазмафереза и контролирует преципитацию, фильтрацию преципитата и удаление избытка гепарина.

4. Диализный модуль контролирует восстановление pH с помощью бикарбонатного буфера и удаление ацетата и жидкости посредством ультрафильтрации.

После окончания цикла работы аппаратуры, автоматически запускается программа заполнения и промывки фильтров. Невозможность прерывания выполнения этой программы гарантирует наиболее аккуратную промывку фильтров. Фаза возврата плазмы после обработки также управляется автоматически. Этим достигается гарантированный возврат забранного объема крови и плазмы пациенту.

Очень важным аспектом Plasmat secura является ее система защиты. Система функционирует с тремя независимыми процессорами: коммуникации, управления

работой и контроля. Микропроцессоры контроля и управления работой независимо друг от друга следят за всеми параметрами и регулируют их (например: контроль температуры, датчик обнаружения воздуха). Они сравнивают полученные результаты и, в случае отклонения какого-либо параметра, передают информацию на процессор коммуникации, который в свою очередь сигнализирует оператору об отклонении звуковым сигналом тревоги и соответствующим сообщением на мониторе. Для большей защиты пациента в случае тревоги цикл лечения прерывается автоматически вплоть до устранения всех неполадок.

Время лечения зависит от скорости тока плазмы и колеблется от 80 до 120 мин. Крайне редко, в случае очень медленного тока крови или образования вторичной мембраны в плазмофильтре реальное время процедуры может увеличиться до 150 мин. Кроме того, необходимо учесть время подготовки аппаратуры для каждого пациента (около 60 мин) и время восстановления аппаратуры после работы (около 30 мин). Непосредственно для клинического персонала процедура длится 3 - 3,5 ч. Оперативные показатели в педиатрической практике практически не отличаются от тех же у взрослых. Несмотря на необходимость обработки меньшего количества плазмы, время процедуры остается таким же за счет низкой скорости тока крови и, следовательно, тока плазмы (табл. 1).

Таблица 1

Оперативные показатели лечения H. E. L. P

	Взрослые	Дети
Объем плазмы, л	2 - 3	1 - 1,5
Скорость тока крови, мл/мин	60 - 100	30 - 60
Скорость тока плазмы, мл/мин	25 - 35	10 - 20
Время лечения, мин	80 - 120	60 - 120 (150)
Время подготовки аппаратуры, мин	50 - 60	50 - 60
Время восстановления аппаратуры, мин	30	30

Клинические аспекты

Семейная гиперхолестеринемия является наследственным заболеванием, наследуемым по аутосомно-доминантному признаку, и встречается в двух формах: гомозиготной, с частотой в Центральной Европе 1 : 1 000 000, и гетерозиготной, с частотой 1 : 500. Уровни холестерина ЛПНП при гетерозиготной форме 300-600 мг / 100 мл, а при гомозиготной форме 600-1000 мг/ 100 мл. Для клинической картины заболевания характерны подкожные отложения холестерина преимущественно вблизи сухожилий (ксантомы), прежде всего на коленях, локтях и на ахилловых сухожилиях. Кроме того, отложения холестерина встречаются вокруг глаз (ксантелязмы) и вокруг радужки (липидная дуга роговицы). Клинически более значимыми все же являются отложения холестерина в стенках кровеносных сосудов, прежде всего в коронарных артериях. Таким образом, пациенты с гиперхолестеринемией в очень молодом возрасте, а при гомозиготной форме, не достигнув возраста 10 лет, страдают стенокардией. Инфаркт миокарда обычно случается при гомозиготной форме на 30-м году жизни, а при гетерозиготной форме заболевания при достижении возраста 55 лет. Клиническая картина проявляется не только коронарной патологией, у некоторых пациентов формируется стеноз устья аорты и сонных артерий, особенно при гомозиготной форме заболевания. Лечение гиперхолестеринемии на начальных этапах состоит в назначении диеты, не содержащей холестерина, и приеме препаратов, снижающих холестерин ЛПНП. Чаще всего используются статины и ионообменные смолы. Статины (ловастатин, правастатин, симвастатин) - препараты, способные ингибировать важные ферменты синтеза эндогенного холестерина, в то время как ионообменные смолы (холестирамин, холестипол) препятствуют всасыванию холестерина в кишечнике, блокируя также внутрипеченочный цикл желчных кислот. При помощи консервативной терапии удается понизить уровень холестерина ЛПНП не более, чем на 40%. Следовательно, такое лечение не эффективно при гомозиготной форме и у пациентов с тяжелыми гетерозиготными вариантами заболевания. Поэтому такие больные являются кандидатами для инвазивных методов лечения: хирургических операций и, в последние годы, плазмафереза. Сегодня наиболее эффективным методом лечения гиперхо-

лестеринемии является ЛПНП-аферез, к которому относится H.E.L.P.-система.

При этой методике обычно за один раз проводится обработка около 3 л плазмы. Такой объем соответствует общему объему циркулирующей плазмы взрослого человека. В среднем удается добиться снижения уровня ЛПНП на 51%±14, Фиб на 46%±15, ЛП(а) на 45%±5 [4] (табл. 2).

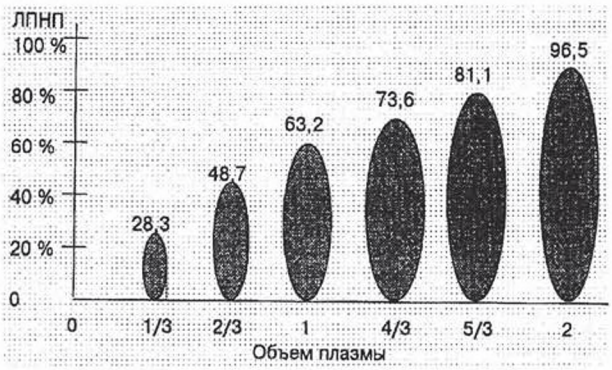
Использование методики H.E.L.P. в комбинации с консервативной терапией (диета, статины, ионообменные препараты) позволяет достичь снижения уровня ЛПНП на 80% [8]. В случае технических осложнений во время лечения, например, тромбирование плазмофильтра или неэффективность работы фильтра удаления преципитата, рекомендуется закончить лечение после обработки как минимум 2 л плазмы, поскольку, согласно кривой снижения концентрации ЛПНП (рисунок), с первыми 2/3 объема плазмы достигается снижение концентрации ЛПНП примерно на 48,7%, время как с оставшейся 1/3 только на 14,5%.

Эффективной считается терапия, при которой значение интервала концентрации холестерина ЛПНП равняется 100 мг/100 мл [3]. Это значение рассчитывается в виде средней величины концентрации холестерина ЛПНП сразу после проведенного сеанса лечения и непосредственно перед последующим сеансом. Например, у пациента после сеанса лечения концентрация ЛПНП равна 70 мг/100 мл, а незадолго до последующей процедуры 140 мг/100мл. Тогда значение интервала будет равняться 105 мг/100мл. Сеансы лечения проводятся обычно один раз в 7 дней, но это время может быть увеличено до 10 - 14 дней и более, в случаях

Таблица 2

Длительные эффекты лечения H. E. L. P.

	Средние значения интервалов, % n=6000
Холестерин ЛПНП	-51 ± 14
Липопротеин-а	-45 ± 5
Фибриноген	-46 ± 15
Апопротеин B100	-45 ± 10
Холестерин ЛПВП	+12 ± 2
Апопротеин A1	+9 ± 2



Кинетика снижения концентрации ЛПНП.

достижения значения интервала концентрации ЛПНП ниже 100 мг/100 мл, в том числе в комбинации с консервативной терапией [2].

Применение H.E.L.P.-системы у детей возможно при массе тела ребенка не менее 27 кг. При помощи специального приспособления у детей можно сократить как скорость тока крови и плазмы, так и экстракорпоральный объем плазмы за счет изменения соотношения плазма/буфер - 1 : 2. В отличие от взрослых, детям часто приходится накладывать артериовенозную фистулу для достижения достаточной для выполнения процедуры скорости тока крови (не менее 30-60 мл/мин). Рекомендуемый объем плазмы, обрабатываемый у детей, составляет от 1000 до 1500 мл и зависит от массы тела и уровней холестерина ЛПНП и Фиб. Время процедуры остается практически неизменным по причине меньшего объема плазмы.

В литературе приводятся следующие побочные эффекты, наблюдавшиеся во время лечения [5]:

- осложнения при выполнении сосудистого доступа,
- снижение артериального давления,
- вазо-вагальные реакции,
- приступы стенокардии,
- желудочно-кишечные расстройства,
- головокружение,
- слабость.

В табл. 3 представлены результаты ретроспективного исследования, проведенного в "Diabetes-Forschungsinstitut" в Дюссельдорфе, где была проведена оценка 2180 протоколов лечения 18 пациентов.

Результаты применения методики H.E.L.P. были оценены и в мультицентровом клиническом исследовании, которое длилось около 10 лет [4]. На сегодняшний день выполнено более 80000

Таблица 3

Частота осложнений при проведении H. E. L. P. - афереза (2180 сеансов лечения, 18 пациентов)

Осложнение (число пациентов)	Абсолютная частота	Относительная частота
Паравазаты/гематомы (14)	19	0,87
Вазо-вагальные реакции (9)	19	0,87
Приступы стенокардии (5)	7	0,32
Гипертензия (1)	5	0,23
Нарушения ЖКТ (2)	4	0,18
Нарушения ритма (2)	2	0,09
Жжение в глазах (1)	1	0,05
Гипервентиляция (1)	1	0,05
Носовое кровотечение (1)	1	0,05
Всего	59	2,71

сеансов лечения у более чем 500 больных примерно в 60 клинических центрах. Одним из впечатляющих результатов терапии является приостановка процессов атерогенеза, а в ряде случаев - обратное развитие стенозирующего атеросклероза коронарных артерий. При количественной коронарографии у пациентов, регулярно получающих лечение H.E.L.P.-аферезом, наблюдались следующие изменения в 187 сегментах: прогрессия в 15,5% сегментов (т.е. увеличение стеноза больше, чем на 8%), неизменное состояние в 57,8% сегментов (изменение стеноза меньше, чем на 8%) и регрессия в 26,7% сегментов (сокращение стеноза больше, чем на 8%) [7].

Заключение

Метод H.E.L.P. - это селективный плазмаферез, который эффективно снижает плазматические концентрации ЛПНП, Фиб и ЛП(а). Основным показанием к его применению является семейная гиперхолестеринемия. Вследствие уменьшения концентрации Фиб происходит улучшение реологических показателей крови. В связи с этим возможно использовать данный метод и для лечения заболеваний с нарушениями микроциркуляции. В одном из мультицентровых клинических исследований была продемонстрирована регрессия стеноза у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца, леченных при помощи методики H.E.L.P. в течение минимум 2 лет.

На основании более чем 10-летнего опыта клинического применения и более 80000 проведенных сеансов лечения при помощи H.E.L.P.- системы можно утверждать, что данный метод является надежным и выполнимым в амбулаторных условиях. За один 3 - 3,5-часовой сеанс обычно обрабатывается 3 л плазмы. С частотой выполнения лечебных сеансов раз в 7-14 дней и в комбинации с диетой, бедной холестерином, сочетающейся с приемом статинов и ионообменных смол, возможно достижение значения интервала концентрации ЛПНП около 100 мг/ 100 мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Armstrong V.W. Die saureinduzierte Prazipitation von LowDensity - Lipoproteinen mit Heparin//Med. Habitation.Universitat Gottingen, 1987.

2. Seidel D. The HELP system: an efficient and safe method of plasmatherapy in the treatment of severe hypercholesterolemia// Therapeutische Umschau.-1990.- Bd. 47.- S. 514-519.

3. Seidel D. Rationale for the treatment of severe hypercholesterolemia in coronary heart disease (CHD)// H.E.L.P. Report 1994. 10 years of clinical experience/Ed. D. Seidel.-Munich: MMV Medizin Verlag GmbH Munchen.- 1994.- P.7.

4. Seidel D. The H.E.L.P.- system, a new therapeutic tool in the Treatment of Atherosclerosis// H.E.L.P. Report 1994. 10 years of clinical experience/Ed. Seidel D.- Munich: MMV Medizin Verlag GmbH Munchen, 1994.- P.12-30.

5. Schottenfeld-Naor J., Susca M., Kleophas W., Gries F.A. Side effects and risks of heparin- induced extracorporeal LDL precipitation//Treatment of Severe Dyslipoproteinemia in the Prevention of Coronary Heart Disease/Ed. A.M. Gotto jr. et al.-Basel: S.Karger Basel, 1993.- P.186-193.

6. Schuff-Werner P. Untersuchunger zur hamorheologischen Wirksamkeit der LDL. Apherese//Med. Habilitation.- Universitet Gottingen, 1989.

7. Schuff - Werner P., Gohlke H., Bartmann U. et al. The HELPstudy Group: Tho HELP- LDL- apheresis multicontrol study, an angiographically assessed trial on the role of LDL-apheresis in the secondary prevention of coronary heart disease//Europ. J. Clin. Invest. - 1994.- Vol. 24.- P.724-732.

8. Thiery J., Armstrong V., Boscg Th. et al. Maximaltherapie der ypercholesterinamie bei koronarer Herzerkrankung// Therapeutischer Umschau .- 1990.- Bd. 47.- S. 520-529.