

Семейная гиперхолестеринемия и ишемическая болезнь сердца

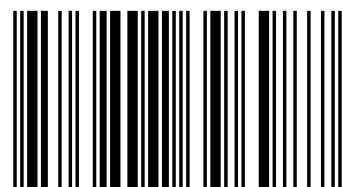
Работа посвящена изучению результатов применения экстракорпоральных методов (ЭМ): плазмообмена (ПО), иммунофереза липопротеидов низкой плотности (ЛПНП-фереза) и афереза фактора атерогенности (ФА-фереза) у больных семейной гиперхолестеринемией II-а типа (сГХС) и ишемической болезнью сердца (ИБС). Изучены показания к применению ЭМ, исследования влияния однократных и многократных процедур ПО, ЛПНП-фереза и ФА-фереза на содержание липидов, липопротеидов и атерогенные свойства сывороток, дана оценка результатов применения длительных курсов ЭМ и исследованы побочные эффекты применения этих методов у больных сГХС и ИБС. Патофизиологически более обоснованным у больных сГХС является применение ЛПНП-фереза. Наряду с селективным удалением «атерогенных» липопротеидов, ЛПНП-ферез индуцирует регрессию уже имеющихся атеросклеротических изменений и значительно улучшает клиническое состояние больных сГХС. На основе проявления атеросклероза в культуре, показано, что ряд фармакологических препаратов и антагонисты кальция обладают прямой антиатеросклеротической активностью.

Семейная гиперхолестеринемия



Хайрулла Хашимов

Профессор Х. А.Хашимов закончил в 1972 г. Государственный медицинский институт (г. Ташкент). В 1978 г. удостоен звания Лауреат премии Ленинского комсомола. В 1988 г. защитил докторскую диссертацию во Всесоюзном кардиологическом научном центре г. Москва). С 1993-2011 г.г. возглавлял представительство компании Pfizer (США) по Центральной Азии.



978-3-8473-9698-7

Хашимов, Орехов, Чернова



Хайрулла Хашимов · Александр Орехов · Екатерина Чернова

Семейная гиперхолестеринемия и ишемическая болезнь сердца

Клинико-экспериментальные обоснования экстракорпоральных методов лечения

**Хайрулла Хашимов
Александр Орехов
Екатерина Чернова**

Семейная гиперхолестеринемия и ишемическая болезнь сердца

**Хайрулла Хашимов
Александр Орехов
Екатерина Чернова**

**Семейная гиперхолестеринемия и
ишемическая болезнь сердца**

**Клинико-экспериментальные обоснования
экстракорпоральных методов лечения**

Impressum / Выходные данные

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Библиографическая информация, изданная Немецкой Национальной Библиотекой. Немецкая Национальная Библиотека включает данную публикацию в Немецкий Книжный Каталог; с подробными библиографическими данными можно ознакомиться в Интернете по адресу <http://dnb.d-nb.de>.

Любые названия марок и брендов, упомянутые в этой книге, принадлежат торговой марке, бренду или запатентованы и являются брендами соответствующих правообладателей. Использование названий брендов, названий товаров, торговых марок, описаний товаров, общих имён, и т.д. даже без точного упоминания в этой работе не является основанием того, что данные названия можно считать незарегистрированными под каким-либо брендом и не защищены законом о брэндах и их можно использовать всем без ограничений.

Coverbild / Изображение на обложке предоставлено: www.ingimage.com

Verlag / Издатель:

Palmarium Academic Publishing

ist ein Imprint der / является торговой маркой

OmniScriptum GmbH & Co. KG

Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121 Saarbrücken, Deutschland / Германия

Email / электронная почта: info@palmarium-publishing.ru

Herstellung: siehe letzte Seite /

Напечатано: см. последнюю страницу

ISBN: 978-3-8473-9698-7

Zugl. / Утвержд.: Москва, Российский кардиологический научно-производственный комплекс, 2013

Copyright / АВТОРСКОЕ ПРАВО © 2014 OmniScriptum GmbH & Co. KG

Alle Rechte vorbehalten. / Все права защищены. Saarbrücken 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Современные представления о липопротеидах различных классов и их роли в атерогенезе.....	13
1.2. Рецепторное взаимодействие липопротеидов низкой плотности с клетками сосудистой стенки.....	20
1.3. Семейная гиперхолестеринемия: методы диагностики и лечения.....	25
1.3.1. Диагностика ГХС.....	26
1.3.2. Медикаментозное лечение.....	28
1.3.3. Хирургические методы лечения ГХС.....	35
1.3.4. Экстракорпоральные методы терапии в лечении больных ГХС.....	36
1.4. Атерогенность плазмы крови больных с атеросклерозом коронарных артерий и возможные пути ее устранения.....	47
1.4.1. Субэндотелиальные клетки интимы аорты человека: тест-система для диагностики атеросклероза и оценки действия антиатерогенных препаратов.....	50
1.4.2. Аферез атерогенного фактора: патогенетические предпосылки.....	57
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	66
2.1. Клиническая характеристика больных.....	67
2.2. Методы обследования больных.....	76
2.2.1. Инstrumentальные методы.....	76
Велоэргометрическое исследование.....	76
Коронарная ангиография.....	80
Дополнительные методы инструментального обследования.....	82
Методы биохимических исследований.....	82

Определение концентрации холестерина и триглицеридов плазмы крови, а также холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов.....	83
Количественное определение апоA-I и апоB методом иммуноэлектрофереза ("ракетного").....	84
Оценка состояния нейроэндокринной системы.....	85
Определение фибронектина, иммуноглобулина A, M и G.....	86
Определение функциональной активности тромбоцитов.....	87
Изучение ЛПНП-рецепторов иммуноферментным методом.....	88
Дополнительные методы исследования.....	90
2.3. Методы лечения больных.....	90
2.3.1. Плазмообмен.....	91
2.3.2. Иммуноферез липодротеидов низкой плотности.....	93
2.3.3. Аферез атерогенного фактора.....	101
2.4. Общая характеристика клеточных моделей и методы их исследования.....	104
2.4.1. Характеристика материала, используемого для получения клеточных и органных культур.....	104
2.4.2. Методы получения органной короткоживущей культуры интимы аорты человека.....	107
2.4.3. Методы культивирования субэндотелиальных клеток нормальной и атеросклеротически измененной интимы аорты человека.....	107
2.4.4. Оценка пролиферативной активности субэндотелиальных клеток интимы.....	108
2.4.5. Изучение содержания внутриклеточных липидов.....	109

2.4.6.	Выделение липопротеидов различных классов методов последовательного препартивного ультрацентрифугирования.....	110
Глава 3.	ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДОВ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНEMИЕЙ.....	111
Глава 4.	ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЛАЗМООБМЕНА У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНEMИЕЙ.....	120
4.1.	Влияние однократных процедур плазмообмена на показатели липидного и липопротеидного состава плазмы крови у больных семейной гиперхолестеринемией.....	121
4.2.	Влияние многократных процедур плазмообмена на липидный состав и содержание липопротеидов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией.....	132
4.3.	Терапевтическая эффективность применения длительного курса многократных процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией.....	137
4.4.	Влияние плазмообмена на содержание гормонов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией.....	148
4.5.	Состояние тромбоцитов при проведении процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией.....	153
4.6.	Изучение побочных эффектов плазмообмена с помощью макромолекулярного мониторинга.....	161

Глава 5.	ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛПНП-ИММУНОФЕРЕЗА У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ.....	169
5.1.	Эффективность ЛПНП-иммunoфереза в лечении больных семейной гиперхолестеринемией.....	169
5.2.	Влияние однократных процедур ДПНП- иммunoфереза на содержание холестерина и липопротеидов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией.....	171
5.3.	Терапевтическая эффективность применения длительного курса многократных процедур ЛПНП- иммunoфереза у больных семейной гиперхолестеринемией.....	182
5.4.	ЛПНП-иммunoферез как способ резорбции отложений липидов в сосудистой стенке: экспериментальные доказательства.....	198
Глава 6.	ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ АФЕРЕЗА АТЕРОГЕННОГО ФАКТОРА У БОЛЬНЫХ С АНГИОГРАФИЧЕСКИ ДОКУМЕНТИРОВАННЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ.....	210
6.1.	Показания к применению процедуры афереза атерогенного фактора.....	210
6.2.	Терапевтическая эффективность афереза атерогенного фактора у больных ишемической болезнью сердца с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца...	
Глава 7.	ОЦЕНКА ПРЯМОГО АНТИАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОЛОШЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ.....	238

7.1.	Липостабил.....	242
7.2.	Холестирамин и клофибрат.....	246
7.3.	Бета-адреноблокаторы.....	251
7.4.	Антагонисты кальция.....	252
7.5.	Искусственные ЛПВП-подобные частицы..	257
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	263
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	280

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает в настоящее время печальное первенство в структуре причин летальности и ранней инвалидности населения высокоразвитых стран (Roffi, Cremonesi, 2013; Olson et al., 2011; Stock, Redberg R, 2012; Siasos et al., 2013; Oldridge, 2012). Это диктует необходимость разработки и дальнейшего совершенствования новых методов лечения больных с атеросклеротическими изменениями в системе венечных артерий сердца (Orehkov, 2013; Kataoka et al., 2012; Montecucco et al., 2012; Yang et al., 2010).

Основные направления поисков в этой области клинической кардиологии непосредственно связаны с прогрессом в изучении механизмов атерогенеза (Wu et al., 2013; Mauricio et al., 2013; Rosas et al., 2013; Sobenin et al., 2013; Findeisen et al., 2013). Стало понятным, что для достижения выраженного лечебного эффекта необходимы методы, позволяющие воздействовать на центральные звенья в цепи процессов, конечным результатом которых является развитие атеросклеротической бляшки.

Успехи в изучении механизмов атерогенеза, достигнутые в последние годы, в значительной степени связаны с конкретизацией сведений о липопротеидах различных классов и их взаимодействии с клетками. В частности, расшифровка рецепторного механизма поглощения липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) клетками стала научной основой для выяснения патогенеза и разработки новых методов лечения больных семейной гиперхолестеринемией (ГХС) II типа (Brown et al., 2001; Goldstein, Brown, 1987; 1992; Goldstein et al., 1979b) - наследственной аномалии, при которой атеросклеротические изменения развиваются в сравнительно

молодом возрасте (Brown, Goldstein, 1986; Goldstein et al., 1979a; 1982; 1985). Установлено, что резкое возрастание уровня содержания ЛПНП в крови больных с данной патологией обусловлено уменьшением числа и/или нарушением функциональных свойств ЛПНП-рецепторов.

Для удаления избытка ЛПНП из крови больных семейной ГХС предложен ряд методов экстракорпоральной терапии (Thompson et al., 1979-1986; Berger et al., 1978; Lupien, 1976; 1980; 1982; Stoffel et al., 1981-1985). Среди этих методов наиболее широкое применение в клинической практике получил плазмообмен. Считают, что с помощью длительного курса процедур плазмообмена у больных семейной ГХС можно добиться стойкого лечебного эффекта (Thompson et al., 1979-1986; Berger et al., 1978; 1980; Apstein et al., 1978; Stein et al., 1986). Вместе с тем имеются и критические замечания к применению этого метода у больных ГХС, так как он не является селективным и при применении плазмообмена возможны побочные эффекты. До сих пор не произведено исследований по изучению влияния плазмообмена на показатели гормонального профиля сыворотки крови больных семейной ГХС, на функциональную способность тромбоцитов и на содержание в крови белков, отражающих состояние ретикуло-эндотелиальной, свертывающей и иммунной систем. Отсутствие данных по этим вопросам является некоторым ограничением к широкому использованию плазмообмена у больных семейной ГХС.

Патогенетически более обоснованным для лечения больных семейной ГХС считают использование сорбентов с иммобилизованными антителами к ЛПНП (ЛПНП-иммуноферез). Однако опыт применения ЛПНП-иммунофереза у больных с данной наследственной аномалией, еще невелик (Stoffel et al., 1981-1985; Borberg et al., 1983; 1986; Parker et al., 1986; Stegmayr, 2005).

До сих пор остаются окончательно не разработанными показания к применению ЛПНП-иммunoфереза, недостаточно изучено его лечебное действие и не дана оценка возможного антиатерогенного эффекта ЛПНП-иммunoфереза.

Изучение причин, лежащих в основе одного из наиболее ранних и заметных проявлений атеросклероза - накопления липидов в клетках интимы (Thompson et al., 2013; Badimon et al., 2011; Badimon et al., 2009) позволило установить наличие атерогенного фактора в крови больных с ангиографически верифицированным атеросклерозом венечных артерий сердца (Chazov et al., 1986; Orekhov et al., 1988). Изучение различных характеристик этого фактора показало, что он обладает свойством индуцировать у исходно "неатерогенных" ЛПНП появление способности вызывать накопление холестерина и других классов липидов в субэндотелиальных клетках интимы аорты человека (Orekhov et al., 1988). Эти данные легли в основу предположения о том, что атерогенный фактор можно удалить, пропустив сыворотку больных ИБС через колонку с иммобилизованными ЛПНП.

Однако, несмотря на ряд теоретических предпосылок, обосновывающих целесообразность применения метода афереза атерогенного фактора у больных ИБС многие аспекты, связанные с клиническим использованием этого метода, оставались практически не изученными. В частности, не были разработаны показания к применению метода афереза атерогенного фактора, не был отработан режим применения этих экстракорпоральных процедур и не была дана оценка терапевтической эффективности метода афереза атерогенного фактора у больных ИБС.

Как показал анализ данных литературы, эффекты экстракорпоральных методов, применяемых у больных семейной ГХС, весьма кратковременны (Thompson et al., 1979-1986; Berger et al.,

1978; 1980; Stoffel et al., 1981-1985; Borberg et al., 1983; 1986; Stein et al., 1986; McGowan, 2013; Stefanutti, Julius, 2013; Schuff-Werner et al., 2012; Schettler et al., 2012). Для поддержания показателей содержания холестерина и ЛПНП в крови на низком уровне необходимо частое повторение процедур. В то же время в арсенале современного врача имеются многочисленные гиполипидемические препараты с разнообразным механизмом действия (Sahebkar, Watts, 2013; Rosenson, Underberg, 2013; Ewang-Emukowhate, Wierzbicki, 2013; Wierzbicki et al., 2013; Félix-Redondo et al., 2013).

Можно предположить, что для уменьшения числа экстракорпоральных процедур их целесообразно выполнять на фоне медикаментозного лечения. При этом для достижения выраженного лечебного эффекта целесообразно применять препараты, обладающие прямой антиатерогенной активностью. Однако до сих пор данные, посвященные изучению влияния лекарственных средств на основные проявления атеросклероза, отсутствовали.

Таким образом, несмотря на теоретическую обоснованность взглядов о целесообразности применения методов экстракорпоральной терапии у больных семейной ГХС и пациентов с ИБС, до сих пор отсутствуют надежные клинические данные, доказывающие необходимость их использования в кардиологической практике. Недостаточно полно изучены показания к применению этих методов, не выяснены многие побочные эффекты действия процедур плазмообмена у больных семейной ГХС, отсутствуют прямые доказательства возможного антиатерогенного эффекта ЛПНП-иммunoфереза, не доказана правомерность предположения о том, что аферез атерогенного фактора у больных с ангиографически документированным атеросклерозом может быть использован как лечебное мероприятие. Наконец, отсутствуют сведения о прямом антиатеросклеротическом действии ряда фармакологических

препараторов, что является ограничением к их использованию в комплексе с экстракорпоральными методами терапии у больных семейной ГХС и пациентов с ИБС.

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Сердечно-сосудистые заболевания, в основе которых лежат атеросклеротические изменения артерий, занимают ведущее место в структуре причин летальности и инвалидности населения высокоразвитых стран (Pellicori et al., 2013; Falk et al., 2013; Peters 2013; Moura 2012; Gargiulo 2012).

В связи с этим большое число исследований направлено на разработку новых методов профилактики и лечения атеросклероза (Orekhov, 2013; Koenen, Weber, 2011; Zeng et al., 2012; Julve et al., 2011; Antoniades et al., 2010; Chhabria, Mahajan, 2009). В последние годы в этой области исследований наметился определенный прогресс. В значительной степени успехи в совершенствовании методов борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями обусловлены конкретизацией представлений о механизмах атерогенеза (Holdt, Teupser, 2013; Schofield et al., 2013.; Frostegård, 2013; Mukhopadhyay, 2013; Norata et al., 2013; Jashari et al., 2013; Thosar et al., 2012; Kalanuria et al., 2012). В настоящее время, наряду с традиционным морфологическим анализом для выяснения основных звеньев патогенеза атеросклероза используются современные методы биохимии, клеточной биологии и молекулярной генетики. Оригинальность подходов и высокий методический уровень этих исследований позволили расширить представления об обмене холестерина (Balci, 2011; Imes, Austin, 2013) и конкретизировать взгляды о структуре, метаболизме и функции липопротеидов различных классов (Badimon, Vilahur, 2012). Достигнуты успехи в изучении функциональных и метаболических свойств клеток, входящих в состав стенки артерий (Findeisen et al., 2013; Wanjare et al., 2013; Chen et al., 2013) и в исследовании роли этих клеток в атерогенезе (Hopkins, 2013; Sena et al., 2013; Salabe, Hill, 2013; Di Pietro et al., 2013; Mitchell, 2013; Goldberg, Bornfeldt, 2013;

Sena et al., 2013; Resanovic et al., 2013). С помощью новых методов сделаны успешные попытки в описании феноменологии и в расшифровке последовательности процессов, приводящих к развитию атеросклеротической бляшки (Holdt LM, Teupser D, 2013; Ghattas et al., 2013; Libby et al., 2013).

Под влиянием новых факторов, полученных в ходе экспериментальных и клинических исследований, намечены основные пути в разработке эффективных методов борьбы с атеросклерозом. В частности, определенные успехи в области профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний связаны с выяснением путей метаболизма холестерина и изучением роли липопротеидов различных классов в генезе нарушений липидного обмена, имеющих место у больных атеросклерозом.

1.1. Современные представления о липопротеидах различных классов и их роли в атерогенезе

Все липиды, за исключением свободных жирных кислот и лизолецитина, циркулируют в плазме крови от места их синтеза (печень, кишечник) до места их утилизации (в частности, клетки сосудистой стени) и обратно в составе липопротеидов (Ramasamy, 2013).

Липопротеиды в зависимости от скорости их седиментации разделяют на несколько классов: липопротеиды низкой (ЛПНП), очень низкой (ЛПОНП) и высокой (ЛПВП) плотности (Ramasamy, 2013). Эти же классы липопротеидов разделяются и с помощью электрофореза (соответственно бета-ЛП, пре-бета-ЛП и альфа-ЛП). Электрофоретические свойства различных классов липопротеидов и скорость осаждения их при ультрацентрифугировании обусловлены спецификой соотношения в них основных классов липидов и белковым составом этих частиц (Pirillo et al., 2013; Superko et al., 2012;

Sorci-Thomas, Thomas, 2012; Agassanian, Mallampalli, 2013; Sánchez-Quesada et al., 2012).

Липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП). Основная масса ЛПОНП образуется в печени. Они являются главной транспортной формой эндогенных триглицеридов (Ramasamy, 2013). Липидный состав ЛПОНП подвержен значительным колебаниям, что отражается и на размерах этих частиц. Под влиянием липопротеидлиазы в сосудистом русле происходит гидролиз липидной компоненты ЛПОНП, с отщеплением от триглицеридов, входящих в их состав, жирных кислот (рис. 1). В результате ЛПОНП превращаются вначале в липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП) и затем в ЛПНП. Параллельно исчезновению жирных кислот происходят изменения в содержании аполипопротеидов, входящих в состав ЛПОНП. Частицы ЛПОНП содержат apo-B и apo-C, тогда как в состав ЛПНП входит практически только apo-B. Это изменение в белковом составе является следствием ферментативно регулируемого обмена белками между ЛПВП, ЛПОНП и ЛПНП в сосудистом русле.

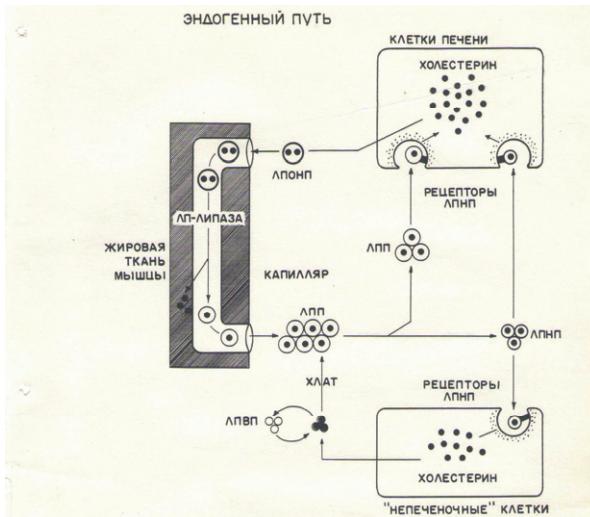


Рисунок 1 - Пути транспорта липидов в организме (no Brown and Goldstein 1986). На схеме отражены основные этапы эндогенного пути транспорта липидов. Липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) выделяются в кровь. Это является начальным этапом эндогенного пути транспорта липидов. Триглицериды удаляются в капиллярах, в результате чего ЛПОНП превращаются в липопротеиды промежуточной плотности (ЛПИП). Некоторые ЛПИП связываются с рецепторами ЛПНП и поглощаются клетками печени, а те, что остались в кровяном русле, превращаются в ЛПНП. Большая часть частиц ЛПНП связываются со своими рецепторами на клетках печени и в других тканях и выводятся из циркуляции. Высвобождающийся из клеток холестерин связывается с липопротеидами высокой плотности (ЛПВП) и этерифицируется лецитин-холестерин-ацетилтрансферазой (ЛХАТ). Эти эфиры переходят в ЛПИП, а затем в образующиеся из них ЛПНП и, в конце концов, захватываются клетками.

Липопротеины низкой плотности. ЛПНП состоят на 22-25% из белка и на 75-78% - из липидов. Основным компонентом липидной части ЛПНП является холестерин (около 50%). Триглицериды составляют 7-10% от общего веса частицы ЛПНП и фосфолипиды - около 20%. Основной функцией ЛПНП является доставка холестерина из крови к клеткам (Ramasamy, 2013).

Направленный транспорт холестерина, входящего в состав ЛПНП, обусловлен наличием в составе этих частиц апопротеина В. Этот белок способен взаимодействовать со специализированными рецепторами клеточных мембран и поступать в цитоплазму в составе эндоцитозных везикул (Ramasamy, 2013).

ЛПНП не синтезируются, как ЛПВП и ЛПОНП, в печени. Они формируются из ЛПОНП после гидролиза триглицеридов, входящих в состав последних и встраивания апо-С в частицы ЛПВП (см. рис. 1).

Липопротеиды высокой плотности. ЛПВП состоят на 50% из белка, приблизительно на 30% - из фосфолипидов и примерно на 20% из холестерина. Так же, как и ЛПОНП, ЛПВП синтезируются в печени. ЛПВП участвуют в трех основных процессах - в акцепции внутриклеточного холестерина, в регуляции скорости эстерификации холестерина и регуляции превращения ЛПОНП в ЛПНП (см. рис. 1).

Важной физиологической функцией ЛПВП является перенос холестерина из клеток периферических тканей (в том числе - из стенки сосуда) в печень и тонкий кишечник (Ramasamy, 2013). Лишь эти два органа обладают способностью к удалению части холестерина из внутренней среды в просвет кишечника. Значительная часть холестерина, поступившего в печень в составе ЛПВП, превращается в желчные кислоты. Перенос холестерина из клеток на частицы ЛПВП происходит по градиенту концентрации через водную фазу. Под влиянием лецитин-холестерин-ацетилтрансферазы (ЛХАТ) происходит эстерификация холестерина. Этот фермент является

главным "двигателем" обратного транспорта холестерина из клеток в равновесную фазу в ситуациях, когда концентрация холестерина в плазматической мембране, в крови и в поверхностном слое ЛПВП примерно одинакова (Ramasamy, 2013). Установлено, что холестерин-переносящая активность ЛПВП значительно увеличивается в присутствии ЛХАТ. В свою очередь для активации этого энзима необходимо присутствие ЛПВП, так как адопротеиды AI, AII и, возможно, AIX, входящие в состав ЛПВП, являются коэнзимами ЛХАТ.

Второй этап обратного транспорта холестерина из кровотока в печень и кишечник связан с направленной доставкой ЛПВП, обогащенных холестерином, с помощью рецепторного эндоцитоза. В гепатоцитах, как установлено, имеется три типа рецепторов, взаимодействующих с апо-белками, входящими в состав ЛПВП (Chadwick, Sahoo, 2013; Fitzgerald et al., 2010; Cucuiaru et al., 2007). Показано, что холестерин, содержащийся в ЛПВП, с большей эффективностью, чем холестерин, входящий в состав ЛПНП и ЛПОНП, окисляется до желчных кислот и выводится из печени (Chadwick, Sahoo, 2013; Fitzgerald et al., 2010; Cucuiaru et al., 2007). Таким образом, транспорт холестерина, входящего в состав ЛПВП, из крови в печень, стимулирует процессы желчеобразования в гепатоцитах и способствует выведению избыточных количеств холестерина из организма.

Изучение липидного состава и путей метаболизма липопротеидов различных классов оказало существенное влияние на развитие представлений о генезе нарушений липидного обмена при атеросклерозе (Dessì et al., 2013; Röhrl, Stangl, 2013; Mukhopadhyay, 2013; Neumann et al., 2013; Mäkinen, Ylä-Herttuala, 2013). Стало понятным, что изучение содержания общего холестерина, триглицеридов и неэстерифицированных жирных кислот может иметь

лишь ограниченное значение для клинической практики. Эти интегральные показатели, косвенно отражающие изменения в соотношении липопротеидов различных классов, не могли стать объективными критериями для разработки рациональных методов диагностики и лечения больных с атеросклеротическими изменениями артерий. Такое заключение подтверждается и анализом исследований, проведенных в конце 50-х - начале 60-х годов, в которых не удавалось установить четкой корреляции между степенью гиперхолестеринемии и выраженностью клинических проявлений атеросклероза (Мясников, 1960).

В настоящее время установлено, что уровень холестерина в крови является производным, по крайней мере, трех показателей - холестерина, содержащегося в липопротеидах низкой (ХС-ЛПНП), очень низкой (ХС-ЛПОНП) и высокой (ХС-ЛПВП) плотности (Lamberts et al., 2006; Defesche et al., 2004; Pang, 1998; Choluj, Votruba, 1991). При этом с практической точки зрения принципиальное значение имеют два показателя: уровень содержания в плазме ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП. Это обусловлено тем обстоятельством, что ЛПНП являются частицами, приносящими холестерин из печени в периферические органы (Joy, 2012; Sjouke et al., 2011; Davidson, 2009) и, в частности, в клетки, содержащиеся в стенке крупных артерий.

В то же время ЛПВП выполняют обратную функцию; акцептируя избыточный уровень холестерина из периферических органов, они способствуют уменьшению концентрации холестерина и его эфиров в клетках (Hersberger, von Eckardstein, 2005).

В связи с изложенными выше фактами, инфильтративная теория атерогенеза, предложенная Н.Н. Аничковым, в настоящее время стала выглядеть несколько иначе, хотя основная суть ее - прохождение липидов в ткань сосудистой стенки из крови и отложение их в интиме как первичное звено возникновения атеросклеротической бляшки -

осталась прежней. Согласно модифицированной инфильтративной гипотезе, возникновение атеросклеротической бляшки связано с нарушением баланса в содержании ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП в крови. По мнению сторонников этой гипотезы, причиной липоидоза сосудистой стенки является избыток ЛПНП в крови, ускоренное поступление которых в ткань сосудистой стенки приводит к накоплению холестерина в клетках и в межуточном веществе интимы артерий. Предполагают, что отложение липидов во внутренней оболочке артерий вызывает вторичную реакцию клеточных элементов сосудистой стенки, результатом которых является развитие фиброзных изменений.

Исходя из основных представлений о структуре и функции ЛПВП, причиной развития атеросклеротических изменений в артериях может быть и снижение уровня содержания этих липидно-белковых частиц в крови. Считают, что при недостатке ЛПВП в крови снижается скорость акцепции холестерина из клеток, расположенных в участках интимы артерий с избыточным уровнем липидов. Подтверждением правильности такого предположения являются исследования, посвященные изучению взаимосвязи между развитием атеросклероза и уровнем содержания в крови липопротеидов высокой плотности (Schofield et al., 2013; Burchardt et al., 2013; Sniderman, Kwiterovich, 2013; Riccioni, Sblendorio, 2012; Ono, 2012; Eren et al., 2012).

На многочисленных популяциях населения стран показано, что снижение ХС-ЛПВП является неблагоприятным прогностическим признаком ИБС, в то время как высокий уровень ХС-ЛПВП отрицательно коррелирует с развитием этого заболевания (Jepresen, 2003; Jee, Jo, 2012; Tyroler, 1985).

Следует, однако, отметить, что статистические данные, полученные на основе популяционного анализа, не могут быть

использованы для разработки диагностических критериев наличия и степени выраженности атеросклеротических изменений у данного конкретного больного. Было, в частности, показано, что у больных атеросклерозом нарушения обмена липопротеидов носят весьма гетерогенный характер (Jeppesen, 2003). Не у всех больных и не всегда выраженность атеросклеротических изменений не только не коррелирует с уровнем общего холестерина в крови, но и с соотношением в содержании ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП (Jeppesen, 2003). В каждом индивидуальном случае проявления атеросклероза могут быть связаны не с количественными, а с качественными сдвигами в системе липопротеидов (Jeppesen, 2003).

1.2. Рецепторное взаимодействие липопротеидов низкой плотности с клетками сосудистой стенки

Основные достижения в области изучения рецепторного взаимодействия ЛПНП с клетками связаны с серией исследований Гольдштейна и Брауна, удостоившихся в 1985 г. Нобелевской премии (рис. 2).

В настоящее время проникновение ЛПНП в клетку можно представить следующим образом. На определенных участках плазматической мембраны располагаются специфические рецепторы, с высоким сродством связывающие липопротеиды низкой плотности (Goldstein, Brown, 1992). ЛПНП, связанные с рецепторами, быстро проникают внутрь клеток путем эндоцитоза (Goldstein, Brown, 1985-1992). Образующиеся эндоцитарные везикулы сливаются с лизосомами, в которых белковая часть ЛПНП расщепляется до аминокислот, а эфиры холестерина гидролизуются с образованием свободного холестерина и жирных кислот (Goldstein, Brown, 1992). Свободный холестерин может использоваться для синтеза мембран в клетке или вновь эстерифицироваться.

В процессе этих исследований была также сформулирована и экспериментально обоснована гипотеза о регуляции уровня холестерина в клетке (Goldstein, Brown, 1985-1992). Считают, что в ее основе лежит взаимодействие процессов трансмембранных (опосредованного рецепторами) транспорта и внутриклеточной деградации липопротеидов низкой плотности с биосинтезом холестерина в цитоплазме. Показано, что уровень поступления в клетку липопротеидов низкой плотности и входящих в их состав холестерина и его эфиров обусловлен наличием специфических ЛПНП-рецепторов (Goldstein, Brown, 1992). При снижении концентрации холестерина в клетке синтез ЛПНП-рецепторов ускоряется, они встраиваются в плазматическую мембрану клетки, селективно связываются с липопротеидами низкой плотности и транспортируются эти частицы через клеточную мембрану в цитоплазму. При повышении концентрации холестерина внутри клетки происходит прекращение синтеза рецепторов (Goldstein, Brown, 1974-1984; Chin et al., 1982; Cummings et al., 1983; Osborne et al., 1985), что приводит к блокаде поступления липопротеидов низкой плотности из окружающей среды (см. рис. 2).

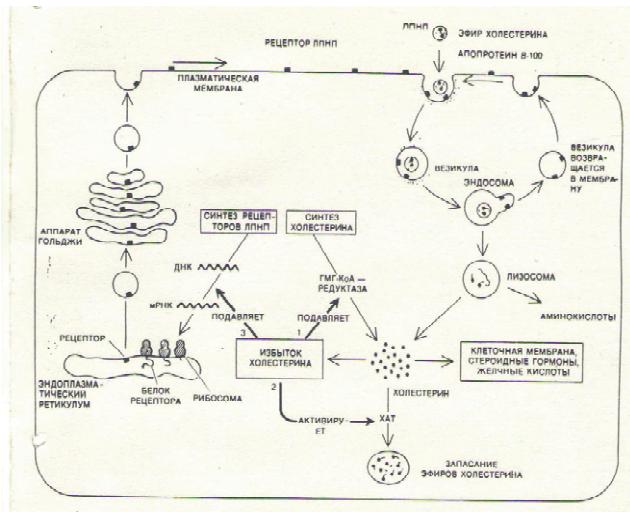


Рисунок 2 - Схема взаимодействия ЛПНП с клеткой (no Brown and Goldstein, 1986). Циркулирующие ЛПНП (вверху справа) захватываются клетками благодаря опосредованному рецепторами эндоцитозу. Комплексы ЛПНП с рецепторами в местах окаймленных пор втягиваются в клетку, и образующиеся при этом окаймленные везикулы, сливаясь друг с другом, превращаются в эндосомы. Кислая среда внутри эндосом способствует диссоциации комплексов. Молекулы рецепторов возвращаются на поверхность клетки, а ЛПНП попадают в лизосомы, где соответствующие ферменты расщепляют апопротеин В-100 и эфиры холестерина. Образующийся свободный холестерин клетка использует для синтеза мембран и для других своих нужд. Избыток холестерина приводит к трем последствиям. Во-первых, ингибируется один из ферментов синтеза холестерина - гидроксиметилглутарил-КоА - редуктаза (ГМГ-КоА-редуктаза) (1). Во-вторых, активируется холестерин-ацетилтрансфераза (ХАТ), этерифицирующая холестерин для его запасания (2). И, в третьих, подавляется транскрипция гена рецептора ЛПНП (3).

Установлено, что специфика взаимодействия рецепторов с ЛПНП обусловлена наличием в их составе апопротеина В (Goldstein, Brown 1985; 1987; Law et al., 1986). В крови апо-В находятся в виде двух изомерных форм: В 100 (молекулярный вес 550000) и В 46 (молекулярный вес 265000). Структура изоформ контролируется одним геном (Knoff et al., 1985; Wei et al., 1985). С помощью моноклональных антител, опознавающих различные участки молекулы апо-В, было показано, что в С-конце апо-В сосредоточено несколько последовательностей, реагирующих с ЛПНП-рецепторами (Proffet et al., 1986).

ЛПНП-рецептор представляет собой трансмембранный гликопротеид, который в настоящее время выделен из нескольких типов клеток человека и млекопитающих (Goldstein et al., 1985; 1987). Получены весьма интересные данные и о молекулярной организации ЛПНП-рецептора (DeLoof et al., 1986), на анализе которых мы не считаем возможным останавливаться (см. рис. 3).

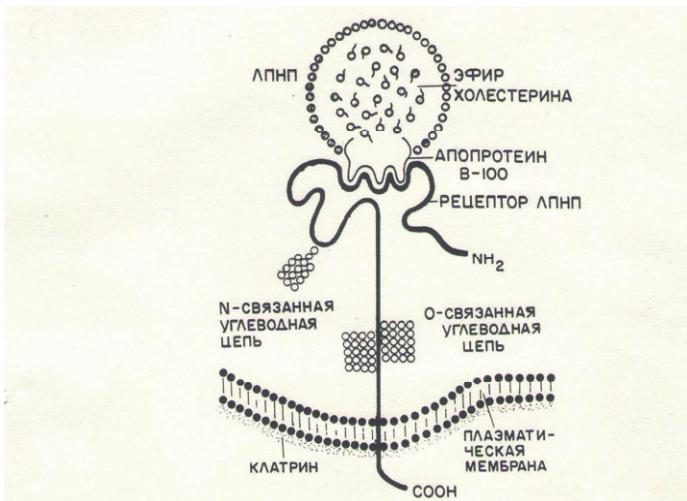


Рисунок 3. Схема молекулярной организации ЛПНП-рецептора (по Brown and Goldstein, 1986). Рецептор ЛПНП представляет собой гликопротеин, частично погруженный в плазматическую мембрану. Установлены места присоединения углеводных цепочек и участок, находящийся в мембране. Истинная форма рецептора не известна и здесь представлена лишь его схема.

Эти данные стали основой для изучения анализа мутаций ЛПНП-рецептора, которые могут иметь определенное клиническое значение. Согласно представлениям Goldstein и Brown (1986), белковый рецептор, предназначенный для эндоцитоза ЛПНП, должен быть наделен множеством молекулярных приспособлений для: 1) узнавания и высокоаффинного связывания лиганда с клеткой; 2) упаковки комплексов рецептор-лиганд в везикулы; 3) направленной доставки везикул к лизосомам и 4) обратного транспорта рецептора на плазматическую мембрану. Нарушение любого из звеньев цепи рецепторного взаимодействия ЛПНП с клеткой может привести к

резкому возрастанию уровня ЛПНП в крови. Клинически генетические аномалии ЛПНП-рецепторов проявляются у больных с семейной гиперхолестеринемией.

1.3. Семейная гиперхолестеринемия: методы диагностики и лечения

Семейная гиперхолестеринемия (ГХС) II-а типа представляет собой наиболее распространенную аномалию среди других дислипопротеидемий (Alonso et al., 2013; Robinson, 2013; Hovingh et al., 2013). К концу 60-х - началу 70-х годов было достоверно установлено, что семейная ГХС II-а типа, в отличие от других не всегда генетически детерминированных дислипопротеидемий, является наследственным заболеванием. Более того, было четко доказано, что наследственная ГХС вызывается дефектами в системе ЛПНП-рецепторов (Goldstein et al., 1973-1983). Данные, опубликованные до середины 75?-х годов, в настоящее время представляют скорее исторический интерес. Истинный прогресс в области изучения патогенеза и диагностики этого заболевания начался после серии блестящих исследований Гольдштейна и Брауна. ЛПНП-рецепторная теория, подробно изложенная нами выше, была создана в значительной мере на основании клеточно-биологического анализа фибробластов, полученных от пациентов с ГХС II-а типа (Goldstein et al., 1973-1983). Было установлено, что резкое повышение уровня ЛПНП в плазме крови больных семейной ГХС обусловлено отсутствием или нарушением функционирования ЛПНП-рецепторов, вследствие чего все клетки организма теряют способность к поглощению и интернализации ЛПНП. Поскольку 75% всех ЛПНП-рецепторов приходится на клетки печени (Goldstein, Brown 1974-1984), семейная ГХС выражается в замедлении катаболизма ЛПНП печенью и постепенным повышением уровня ЛПНП в крови (Kane a. Mahley, 1982).

1.3.1. Диагностика ГХС

Диагноз семейной ГХС может быть поставлен в ряде случаев у новорожденных при определении уровня холестерина в крови из пупочной вены (Bowen et al., 2012; Avis et al., 2009). Уровень общего холестерина и ХС-ЛПНП у больных детей выше, чем у здоровых, уже в неонатальном периоде и продолжает повышаться вместе с ростом ребенка (Bowen et al., 2012).

Среди больных с семейной ГХС выделяют пациентов с гомозиготной и гетерозиготной формами заболевания (Alonso et al., 2013; Hovingh et al., 2013; Thompson, 2013). В отличие от гетерозиготной ГХС, встречающейся с частотой приблизительно 1 человек на 500 жителей, гомозиготная ГХС представляет собой скорее казуистику: 1 больной на 1000000 жителей. Течение этих двух форм семейной ГХС различно: у гомозиготов атеросклероз развивается обычно в первое десятилетие жизни и они редко доживают до 40 лет. Опасность возникновения заболеваний, связанных с атеросклерозом магистральных артерий, велика также и при гетерозиготной ГХС: на долю этого заболевания приходится 2/3 всех инфарктов миокарда у лиц моложе 30 лет и каждый 20-й инфаркт миокарда в целом (Wierzbicki et al., 2013; Farnier M, Bruckert, 2012).

Чрезвычайно быстрое развитие атеросклероза у больных с семейной ГХС требует проведения активного комбинированного лечения (Marais, Blom, 2013; Ewang-Emukowhate, Wierzbicki, 2013; Mombelli, Pavanello, 2013; Drakopoulou et al., 2013). В этой связи особую значимость представляет ранняя диагностика наследственной ГХС. У взрослых больных с гетерозиготной формой ГХС уровень содержания холестерина в плазме крови обычно достигает 350-600 мг/дл, и эти показатели должны в первую очередь привлекать внимание врача (Choluj, Votruba, 1991; Umans-Eckenhausen et al., 2001;

Jensen, 2002). У больных с гомозиготной формой ГХС уровень содержания холестерина еще выше - 700-1200 мг/дл (Choluj, Votruba, 1991). При изучении уровня содержания в плазме крови холестерина, входящего в состав различных классов липопротеидов, установить наличие наследственной ГХС не представляет особых трудностей: одновременно с возрастанием ХС-ЛПНП, уровень ХС-ЛПОНП не превышает нормативных показателей (Choluj, Votruba, 1991).

Определенное значение в диагностике семейной ГХС могут иметь и клинические признаки заболевания: появление сухожильных ксантом на фоне развития типичной картины ишемической болезни сердца (Oosterveer et al., 2009). Другим характерным признаком этого заболевания являются атеросклеротические поражения аортальных клапанов (Choluj, Votruba, 1991). Тщательное клиническое обследование позволяет диагностировать и другие признаки, свойственные больным семейной ГХС: появление рано возникающего синдрома стенокардии и остеохондроз позвоночника (Choluj, Votruba, 1991). Следует, однако, отметить, что без проведения комплексного биохимического обследования с изучением уровня холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов, установить точный диагноз семейной ГХС II-а типа не представляется возможным.

Особую значимость в диагностике семейной ГХС II-а типа имеет изучение ЛПНП-рецепторов в фибробластах кожи и/или лимфоцитах, выделенных из крови (Aliev et al., 2004).

Установлено, что в основе резкого возрастания уровня ЛПНП в крови, имеющего место у больных с семейной ГХС, могут лежать, по крайней мере 3 типа аномалий ЛПНП-рецепторного аппарата:

а) рецептор-негативные пациенты, у которых выявляется менее 2% (по сравнению с клетками здоровых лиц) активных ЛПНП-рецепторов;

б) рецептор-дефектные пациенты, клетки которых характеризуются резким уменьшением (до 20-30% в сравнении с нормой) числа рецепторов и в) пациенты, в клеточной мемbrane которых содержится нормальное количество, но не функционирующих ЛПНП-рецепторов (Goldstein, Brown, 1992).

В настоящее время проводится серия интересных молекулярно-генетических исследований, посвященных изучению механизмов нарушения в структуре генома, обуславливающих специфику нарушений ЛПНП-рецепторного аппарата в клетках больных семейной ГХС (Faiz et al., 2012; Chi, 2011; Jones et al., 2009). Эти подходы, однако, еще не могут быть использованы в клинической практике для диагностики данного заболевания.

До развития ЛПНП-рецепторной гипотезы происхождения семейной ГХС основное внимание в лечении этого заболевания уделяли использованию диетотерапии и назначению гиполипидемических препаратов. Эти методы лечения в настоящее время применяют в основном как вспомогательные способы борьбы с наследственной гипербеталипопротеидемией.

Имеются сообщения о том, что ограничение приема с пищей холестерина и насыщенных жирных кислот у больных с умеренными формами семейной ГХС способствует снижению уровня ХС-ЛПНП в плазме крови (Marais, 2013). Им, однако, противоречат результаты многих других исследований, в которых показана неэффективность диетотерапии в коррекции дисбаланса липопротеидов у больных семейной ГХС (Watts et al., 2012).

1.3.2. Медикаментозное лечение

Достижения в области выяснения метаболизма липидов и липопротеидов стали научной основой для разработки фармакологических методов лечения семейной ГХС. Выяснение

основных звеньев синтеза холестерина и изучение путей транспорта этого соединения из печени в периферические органы и ткани определило направление поисков гиполипидемических препаратов.

Стало понятным, что для коррекции нарушений липидного обмена, имеющих место у больных с семейной ГХС, необходимо воздействовать на систему липопротеидов, циркулирующих в крови. Исходя из представлений о механизмах развития этого заболевания для успешного лечения больных семейной ГХС необходимы лекарственные средства, позволяющие вмешиваться в систему липопротеидов на уровне их синтеза в печени, а также на стадии их взаимодействия с клетками сосудистой стенки.

В настоящее время считается общепризнанным, что для достижения выраженного гиполипидемического эффекта необходимы лекарственные препараты с преимущественным действием на уровне липидов (рис. 4).

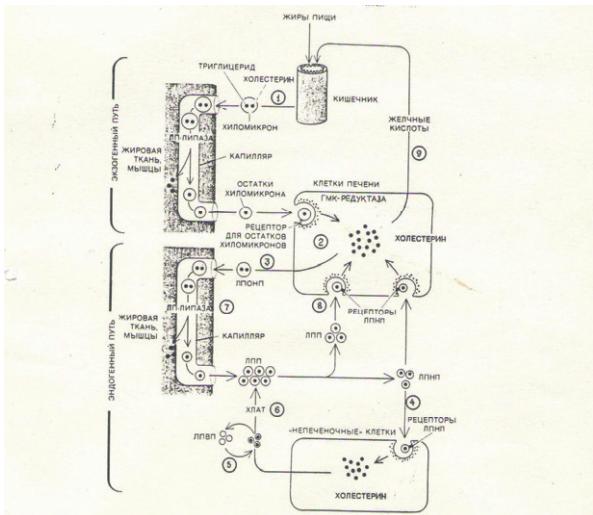


Рисунок 4. Возможные механизмы действия гиполипидемических препаратов. (Объяснения в тексте).

Следует сразу отметить, что в арсенале современного врача имеются препараты с преимущественным действием не на всех перечисленных выше уровнях.

Вместе с тем для нужд клинической практики создан широкий спектр гиполипидемических препаратов с разнообразным механизмом действия.

a. Препараты, блокирующие всасывание холестерина в кишечнике

К препаратам этого ряда относится прежде всего холестипол (Scaldaferri et al., 2013; Reiner, 2010; Bays, Goldberg, 2007).

Холестипол представляет собой водонерастворимую смолу, которая в кишечнике избирательно связывает желчные кислоты (Bays, Goldberg, 2007). В результате блокируется повторное всасывание желчных кислот в кишечнике, печень производит новые порции желчных кислот из холестерина (Scaldaferri et al., 2013). Частично

холестипол блокирует и поступление холестерина с пищей, так как ограничивает образование новых мицелл.

Недостаток холестипола и других секвестрантов желчи (например, холестеринамина и клофибрата) обусловлен тем, что они стимулируют синтез эндогенного холестерина (Reiner, 2010). Поэтому секвестранты желчи лучше применять в комбинации с ингибиторами синтеза холестерина.

б. Ингибиторы синтеза холестерина в печени

Статины - селективные ингибиторы синтеза холестерина в клетках на уровне подавления активности генома 3-гидрокси-3-метилглютарила КоA-редуктазы (Maji et al., 2013; Minder et al., 2013). Они нашли широкое применение в том числе, при семейной ГХС (Palmer et al., 2013).

в. Препараты, модифицирующие ЛПНП-рецепцию

До сих пор отсутствуют корректные данные, указывающие на возможность использования препаратов, влияющих на скорость поглощения ЛПНП, обусловленного взаимодействием этого класса липопротеидов с ЛПНП-рецепторами. С известными ограничениями в этом плане можно говорить о пробуколе (Yamashita, Matsuzawa, 2009). Установлено, что при применении пробукола резко (на 10-25%) снижается уровень холестерина в крови (Miettinen et al., 1982), в том числе - у больных с наследственной гиперхолестеринемией (Yamamoto et al., 1983). Однако механизмы действия пробукола остаются нерасшифрованными. Не исключено, что пробукол модифицирует липопротеиды низкой плотности и этим способствует увеличению скорости поглощения ЛПНП клетками (Kasanen, Grundy, 1984). Прямые эффекты пробукола на ЛПНП-рецепторы менее вероятны.

г. Препараты, ускоряющие акцепцию холестерина из клеток

Хорошо известно, что акцепция внутриклеточного холестерина является важнейшей функцией ЛПВП. В настоящее время еще не созданы фармакологические препараты, позволяющие увеличивать скорость переноса холестерина из клеток периферических органов в печень и тонкий кишечник. Однако имеются данные, свидетельствующие о перспективности такого подхода (Orehov et al., 1984). Однако полученные в настоящее время данные позволяют говорить лишь о возможности использования препаратов с таким механизмом действия у больных семейной ГХС.

д. Препараты, ускоряющие эстерификацию холестерина, катализируемую ЛХАТ

К препаратам с таким механизмом действия, но достаточно условно, можно отнести липостабил. Это лекарственное средство получило широкое применение в клинике, так как липостабил способствует снижению уровня холестерина и триглицеридов у больных с нарушениями липидного обмена (Hevelke et al., 1980; Yasugi, 1973; Blaton, 1978) и нормализует показатели уровня липопротеинов, увеличивая содержание ХС-ЛПВП в крови (Pupita, 1969; Spigal, 1970). Результаты исследований, касающихся изучения механизма действия липостабила, косвенно указывают на возможность того, что липостабил может служить субстратом лецитин-холестерин-ацетилтрансферазы (ЛХАТ) (Stoffel, 1978). Основным действующим началом липостабила является полиэноил фосфатидилхолин. Как известно, под влиянием ЛХАТ неэстерифицированный холестерин образует эфиры с жирной кислотой, исходящей из молекулы фосфатидилхолина, содержащегося в ЛПВП. Считают, что липостабил, образуя комплекс с ЛПВП,

способствует акцепции холестерина клеточных мембран и, тем самым, способствует "активизации" антиатерогенных свойств ЛПВП. Однако точный механизм действия липостабила не может считаться окончательно изученным. Независимо от этого, липостабил широко применяют в кардиологических клиниках для повышения уровня ЛПВП в плазме крови и для нормализации соотношения ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП (Hevelke et al., 1980; Yasugi, 1973; Blaton, 1978). Эффективность применения липостабила в лечении больных семейной ГХС остается, однако, и до сих пор предметом дискуссий (Domenech, Oroz, 1985).

е. Препараты, действующие на стадии гидролиза триглицеридов, входящих в состав ЛПОНП

К препаратам этого ряда относят никотиновую кислоту, которая используется для лечения больных семейной ГХС (Jones, 2013; Lakey et al., 2013; Barnett et al., 2013; Fischer et al., 2013). Считают, что никотиновая кислота блокирует активность липопротеидлипазы эндотелия печеночных капилляров и одновременно активирует липолиз в жировой ткани. За счет такого перераспределения активности липолиза, как предполагают, подкожная жировая клетчатка, сальник и некоторые другие органы преимущественно захватывают жирные кислоты и ЛПОНП, выполняя функцию "временного депо" холестерина. Подкожный слой жировой клетчатки является очень емким депо холестерина, поскольку значительные количества холестерина легко накапливаются в жировых каплях адипоцитов.

ж. Препараты, действующие на стадии рецептор-опосредуемого поглощения ЛПВП, обогащенных холестерином, клетками печени

До сих пор не найдено препаратов, для которых был бы точно

установлен именно такой их механизм действия. Предполагают, что клофибрат и другие препараты, относящиеся к группе катионных смол, увеличивают скорость поглощения ЛПВП гепатоцитами (Chien et al., 2009). Однако этот эффект рассматривают как результат их "побочного действия".

3. Препараты, действующие на стадии желчеобразования и выведения холестерина

К препаратам с таким механизмом действия относится гормон щитовидной железы - тироксин (Hennessey, Scherger, 2007). В экспериментах на животных показано, что применение тироксина способствует снижению уровня холестерина в крови. Установлено, что введение этого гормона сопровождается увеличением скорости выхода холестерина с желчью (Мясников, 1960). Результаты этих экспериментальных исследований согласуются с данными клинических наблюдений о том, что у больных тиреотоксикозом атеросклеротические изменения, как правило, отсутствуют, а показатели соотношения ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП свидетельствуют о высоком уровне содержания "антиатерогенных" классов липопротеидов.

К препаратам, терапевтическая эффективность которых может быть обусловлена увеличением скорости выхода холестерина с желчью, относятся и катионные смолы (холестеринамин, клофибрат, холестипол). Как уже отмечалось нами выше, угнетая процессы реабсорбции холестерина и желчных кислот в кишечнике, они являются стимуляторами желчеобразования.

В целом, опубликованные к настоящему времени данные литературы свидетельствуют о том, что, несмотря на разнообразие гиполипидемических препаратов, их клиническая эффективность при лечении больных семейной гомозиготной формой ГХС не может

считаться строго доказанной. В этой связи считаем целесообразным напомнить, что при данной генетической аномалии имеет место дефицит или резкое нарушение функциональной активности ЛПНП-рецепторов. Анализ данных литературы позволяет заключить, что до сих пор не создано фармакологических препаратов, гиполилицемический эффект которых был бы обусловлен их влиянием на ЛПНП-рецепцию.

В связи с этим, по мнению большинства специалистов, фармакотерапия семейной ГХС II типа может быть использована лишь как дополнительное мероприятие на фоне появившихся в последние годы новейших методов лечения этого заболевания.

1.3.3. Хирургические методы лечения семейной ГХС

Имеются сообщения об использовании паллиативных операций (кишечного анастомоза и портокавального шунтирования) для лечения больных семейной ГХС (Tonstad, Després, 2011).

Впервые кишечный анастомоз для лечения больных с этой наследственной аномалией применил Buchwald (Buchwald, 1964). В 1974 г. Buchwald с соавторами сообщил о результатах этой операции более чем у 100 больных ГХС II типа и представил данные о снижении уровня холестерина в крови у всех оперированных (Buchwald et al., 1974). Эти наблюдения согласуются с результатами других авторов (Thompson, Gotto, 1973). В настоящее время, однако, кишечный анастомоз рассматривают как слишком травматичный и недостаточно эффективный метод лечения больных семейной формой ГХС.

Подвергается дискуссии и возможность использования портокавального анастомоза (Forman et al., 1982). Несмотря на ряд теоретических предпосылок к использованию портокавального шунтирования, отдаленные результаты применения этой операции у

больных с наследственной ГХС не кажутся убедительными. В частности, Forman et al. (1982), проанализировав результаты применения этого вида хирургического вмешательства у 13 больных в возрасте от 4 до 27 лет с гомозиготной формой ГХС, сообщил о снижении уровня общего холестерина и ХС-ЛПНП в крови в среднем на 18% и увеличении уровня ХС-ЛПВП у большинства прооперированных больных. Однако один из 13 больных умер в послеоперационном периоде, а у других смерть наступила через 2-6 лет после наложения шунта. Поскольку до сих пор точно не установлена продолжительность жизни больных с гомозиготной формой ГХС, которым проводится фармакологическая коррекция нарушений обмена липопротеидов, говорить об эффективности операции наложения портокавального анастомоза у больных гомозиготной формой ГХС преждевременно.

1.3.4. Экстракорпоральные методы терапии в лечении больных ГХС

Ведутся поиски в области разработки экстракорпоральных методов лечения больных семейной ГХС IIa типа (McGowan, 2013; Stefanutti, Julius, 2013).

В опытах на кроликах с экспериментально вызванной гиперхолестеринемией было показано, что гемосорбция с использованием алюминосиликатного сорбента (МИНХ-2) приводит к снижению исходно высокого уровня холестерина в крови. Было также установлено, что гемосорбция оказывает благоприятное влияние на резорбцию липидов из атеросклеротических поражений и, тем самым, не только задерживает их дальнейшее развитие, но, возможно, в некоторой степени оказывает лечебный эффект (Лопухин, 1979; Микаялян с соавт., 1981).

Ещё в 1981 г. были опубликованы данные о применении гемосорбции у 2 больных с семейной ГХС (Лопухин с соавт., 1981).

Было установлено, что в ходе гемосорбции у обоих больных с семейной гиперхолестеринемией произошло двукратное снижение общего холестерина и ХС-ЛПНП в крови. В другом сообщении были представлены результаты использования гемосорбции у 18 больных с семейной ГХС и у 32 больных ИБС (Лопухин с соавт., 1983). Было установлено, что после 2-3 сеансов гемосорбции произошло уменьшение, а в ряде случаев - и исчезновение приступов стенокардии. После гемосорбции отмечалось снижение концентрации холестерина и ХС-ЛПНП плазмы крови в среднем на 35-45%. Авторы считают, что использование этого экстракорпорального метода у больных семейной ГХС Ia типа способствует удалению "токсических" концентраций холестерина из организма больного.

Другим экстракорпоральным методом, получившим широкое применение в лечении больных ГХС Ia типа, является плазмаферез.

Впервые de Gennes с соавт. (de Gennes et al., 1967) применил удаление плазмы крови (без последующей замены ее донорской плазмой) в комплексной терапии больных гомозиготной формой ГХС, удаляя по 400 мл плазмы каждые 2-3 дня в течение 4-х месяцев. Процедура оказалась эффективной: у всех больных происходило снижение уровня холестерина в крови. Однако этот метод не получил широкого распространения.

В последующие годы техника плазмафереза была усовершенствована. Был разработан сепаратор клеток, позволяющий разделять форменные элементы крови от плазмы. В связи с этим появилась возможность удалять большие объемы плазмы и использовать донорскую плазму (с низким содержанием ЛПНП) или фракции белков плазмы (альбумин), растворенные в различных растворах, для замены удаленной плазмы, больного. Впервые Turnberg с соавт. (1972) использовали клеточный сепаратор для отделения форменных элементов крови, от плазмы у одного больного

ксантоматозом, осложненным циррозом печени. В 1975 г. Thompson с соавторами использовал плазмообмен для лечения двух больных с гомозиготной формой семейной ГХС. В таблице 1 представлены первые работы по данной тематике. К настоящему времени число публикаций об использовании плазмообмена в лечении больных ГХС IIa типа значительно возросло.

В целом изучение ближайших и отдаленных результатов применения плазмообмена у больных с семейной ГХС свидетельствуют об эффективности применения этой процедуры при данном заболевании. Так, Thompson (1979) производил плазмообмен с удалением 4 литров плазмы и заменой ее эквивалентным объемом белковой фракции донорской плазмы у 4-х больных с гомозиготной и у 3-х - с гетерозиготной формой ГХС. Уровень содержания общего холестерина у гомозигот снижался сразу после процедур с 850-1000 мг/дл до 250-280 мг/дл и не восстанавливался до исходного в течение 2 недель. У больных гетерозиготной формой ГХС уровень содержания общего холестерина также уменьшался почти в 3 раза (с 400- 450 мг/дл до 100-120 мг/дл). Одновременно происходило и резкое (на 30-35% от контроля) снижение уровня содержания ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП.

Наблюдения за пациентами, которым применялась процедура плазмообмена в течение двух лет, показали, что за этот период у больных с гомозиготной формой ГХС уровень холестерина снизился с 850-1000 мг/дл до 250-280 мг/дл. 7 больных с гетерозиготной формой ГХС за этот же период содержание общего холестерина снизилось с 400-450 мг/дл до 200-220 мг/дл. Клинически у больных уменьшилась выраженность симптомов стенокардии и произошла значительная регрессия ксантом. При повторной коронарографии, произведенной у 3-х пациентов, регрессии органических изменений, венечных артерий сердца обнаружено не было. Двум пациентам с гетерозиготной

формой ГХС было выполнено аорто-коронарное шунтирование и симптомы стенокардии у них полностью исчезли.

Таблица 1

Применение плазмообмена у больных с семейной гиперхолестеринемией II типа

Автор, год	Пациенты, к-во Форма ГХС	Частота и длительность процедуры
Turnberg et al., 1972	1 пациент с билиарным циррозом	1 раз в месяц в течение 7 месяцев
Thompson et al., 1975	2, гомо	1/мес. в течение 4-8 мес.
Berger et al., 1978	2, гомо	1-2/мес. в течение 3-18 мес.
Simons et al., 1978	4, гомо	1/мес. в течение 13-18 мес. 2-4/мес. в течение 5-38 мес. 2/мес. в течение 12 мес.
Thompson et al., 1980	3, гомо; 4, гетеро	2/мес. в течение 12 мес. 2/мес. в течение 16 мес.
King et al., 1980	2, гомо	2-4/мес. в течение 15-60 мес.
Witztum et al., 1980	1, гомо	
Stein et al., 1981	1, гомо; 1, гетеро	2-4/мес. в течение 16 мес.
Thompson et al., 1981	2, гомо; 2, гетеро	2 мес. в течение 16 мес. 2-3/мес. в течение 4 мес.
Thanabalasingham et al., 1980	2 гомо; 2, гетеро	½ мес. в течение 32 мес. 1-2 мес.
Postiglione et al., 1982	1, гомо; 1, гетеро	
Dabels et al., 1982	1, гомо	
Berger et al., 1980	1, гомо	
Etta et al., 1980	1, гомо; 1, гетеро	

Примечание: гомо - гомозиготная форма ГХС;
гетеро - гетерозиготная форма ГХС

Считается, что процедуры плазмообмена следует проводить на фоне приема гиполипидемических препаратов. Наиболее

эффективной как в плане снижения уровня общего холестерина, так и в отношении нормализации содержания ЛПНП в крови является использование никотиновой кислоты с одновременным применением процедур плазмообмена.

К выводу об эффективности использования плазмообмена у больных с гомозиготной формой семейной ГХС пришли многие авторы (Etta et al., 1980). Ими было показано, что применение этой процедуры в течение 30 и 21 месяца у двух детей, страдающих ГХС, приводило к снижению уровня общего холестерина и ХС-ЛПНП, в то время как содержание ХС-ЛПВП осталось прежним. Авторы наблюдали также выраженное уменьшение размеров кожных ксантом у обоих пациентов. Сообщалось снижение уровня холестерина в крови, уменьшении размеров кожных ксантом и улучшении клинического состояния 3-х больных с гомозиготной формой ГХС IIa типа сообщили также Stein et al. (1981).

В исследовании Berger et al. (1980) был также сделан вывод о положительном эффекте плазмообмена у больных с семейной ГХС IIa типа. Наряду со снижением уровня общего холестерина и ХС-ЛПНП у 3-х больных, проводивших в течение 2,8-3,2 лет курс плазмообмена у них возросли также показатели мощности пороговой нагрузки (по данным велоэргометрии).

У одного больного, которому была выполнена повторная коронарография, авторы отметили увеличение просвета венечных артерий сердца, у которого до проведения курса плазмообмена имело место 40-60% сужение артерий. Авторы считают, что постоянное удаление ЛПНП с помощью плазмообмена позволяет добиться регрессии атеросклеротических изменений.

Postiglione et al. (1982) изучали эффект применения процедуры плазмообмена на скорость кровотока по артериям нижних конечностей у 9-летней девочки с гомозиготной формой ГХС и 41-

летнего мужчины с гетерозиготной формой ГХС. Ими было установлено, что через 1 и 7 дней после проведения процедуры происходило двукратное (у девочки) и почти трехкратное (у мужчины) возрастание показателей скорости кровотока.

Thompson et al. (1986) сообщили результаты применения плазмообмена у 5 больных с гомозиготной формой ГХС, которым один раз в две недели в течение более 8 лет применялась эта процедура. Курс плазмообмена оказался эффективным: уровень содержания общего холестерина снизился в среднем на 37%. Этот эффект был еще более выраженным на фоне применения мевинолина. Снижение уровня холестерина, по данным Thompson et al. (1986), способствовало задержке развития атеросклеротических изменений у больных гомозиготной ГХС (в сравнении с контрольной группой, получавшей только медикаментозную терапию).

Stein et al. (1981) также приходят к заключению об эффективности плазмообмена у больных с семейной ГХС. Ими было показано, что скорость развития атеросклеротических изменений в венечных артериях сердца (по данным повторной коронарографии) была меньше у 17 больных, получавших медикаментозную терапию в сочетании с плазмообменом, чем у 16 больных, проходивших курс лечения медикаментозными препаратами.

В целом представленные выше данные свидетельствуют об эффективности применения плазмообмена в лечении больных семейной ГХС. Однако существенными ограничениями для проведения плазмообмена является удаление и разведение всех компонентов плазмы, необходимость использования дорогостоящих плазмозаменителей и отсутствие селективности.

Кроме того, многие аспекты, связанные с использованием плазмообмена в комплексном лечении больных ГХС остаются недостаточно изученными. В частности, до сих пор мало освещены

вопросы, касающиеся разработки объективных критериев оценки побочных эффектов плазмообмена у больных с наследственной ГХС IIa типа. Не установлено, в частности, влияние этой процедуры на гормональный профиль у больных ГХС. Не изучено также действие плазмообмена на тромбоциты и систему свертывания крови. Не исключено, что постоянная замена плазмы крови больного белками плазмы доноров может отразиться и на состоянии системы иммунитета у больных ГХС. Отсутствие сведений по этим вопросам является существенным ограничением для более широкого клинического применения плазмообмена в лечении больных семейной гиперхолестеринемией.

Еще одним методом, использующимся для селективного удаления ЛПНП, является избирательное удаление этих липидно-белковых комплексов с помощью двойной фильтрации (von Baeyers et al., 1983). Используя этот метод, von Baeyers et al. (1983) производили селективное удаление ЛПНП из плазмы 11 больных с семейной ГХС. Было показано, что проведение каждой процедуры плазмообмена в сочетании с селективной двойной фильтрацией приводило почти к двукратному снижению содержания общего холестерина в крови, приблизительно к 45% снижению уровня ХС-ЛПНП и не отражалось на содержании ХС-ЛПВП.

Однако этот метод также не лишен недостатков (Zilesman, 1984). При применении двойной фильтрации повышается вероятность гемолиза и активации системы комплемента вследствие контакта плазмы с материалом фильтрующих мембран.

Исходя из наблюдений о том, что плазмообмен и двойная фильтрация не позволяют селективно удалять только ЛПНП из плазмы крови больных семейной ГХС, ведется поиск в области разработки методов, с помощью которых можно было бы избирательно удалять из крови этот класс "атерогенных"

липопротеидов. Определенные надежды в этом плане стали возлагать на аффинную хроматографию (Lupien et al., 1976-1982). В частности, для удаления ЛПНП из плазмы крови предлагают применять гепарин-сепарозу (Lupien et al., 1976-1982). В этом случае взаимодействие липопротеидов низкой и, возможно, очень низкой плотности осуществляется по принципу ионообменной хроматографии. Так как гепарин представляет собой полианионит, с ним достаточно эффективно связываются положительно заряженные молекулы. Впервые Lupien et al. (1976) применили гранулы гепарин-агарозы для удаления ЛПНП. Используя этот метод, Lupien с соавт. сообщили о 15-20% снижении уровня холестерина у двух пациентов с гетерозиготной формой ГХС. Было также установлено, что с помощью колонок, заполненных гранулами гепарин-агарозы, происходит удаление ЛПНП из плазмы крови больных. Однако этот эффект был кратковременным: через 48 часов после процедуры уровень ЛПНП в крови восстанавливался. Lupien с соавт. сообщил о результатах длительного (2-х летнего) применения аффинной хроматографии с использованием гранул гепарин-агарозы у двух пациентов с семейной ГХС. Было показано, что проведенное лечение привело к снижению содержания ХС-ЛПНП и одновременно к нормализации ХС-ЛПВП у обоих пациентов.

Для селективного удаления ЛПНП Yokoyama et al. (1986) впервые предложили сорбент, состоящий из декстран-сульфата на целлюлезных шариках. Было показано, что с помощью этой процедуры можно селективно удалять ЛПНП и ЛПОНП, не влияя существенно на содержание других компонентов плазмы крови и, в частности, не удаляя ЛПВП. Процедура была применена у 2-х больных с семейной ГХС. Было показано, что во время процедуры с использованием колонок с декстран-целлюлозой происходило селективное удаление ЛПНП. Наблюдение за пациентами, которые в

течение 19-27 месяцев проходили курс этого вида экстракорпорального лечения позволило показать, что побочные эффекты при применении данной процедуры отсутствуют. Сообщалось о результатах лечения 7 больных семейной ГХС с помощью предложенного ими метода. Было показано, что ХС-ЛПНП за 2,5-3,3 года лечения снизился у больных с 330-450 мг/дл до 100-150 мг/дл. Одновременное с аффинной хроматографией применение лекарственных препаратов (холестеринамина, пробукола и/или компактина) позволили добиться значительной регрессии ксантом. У 11-летней девочки с гомозиготной формой ГХС, которой в течение 5 лет проводился плазмообмен с последующей заменой его двойной фильтрацией была достигнута регрессия атеросклеротических изменений в почечной артерии (по данным повторной коронарографии).

Поиски в области разработки метода, селективно удаляющего ЛПНП из плазмы крови, привели к идее создания ЛПНП-иммunoфереза (Stoffel et al., 1981a). Были получены антитела к ЛПНП, иммобилизированные на сепарозе. В опытах на минисвиньях было показано, что при пропускании плазмы через колонку с антителами к ЛПНП, иммобилизованных на сепарозе, происходила адсорбция ЛПНП. Было установлено, что содержание ЛПНП в плазме минисвиней при проведении процедуры ЛПНП-иммunoфереза снижалось на 50% за первые 20 мин, а к концу 2-3 часа - на 75% (Stoffel et al., 1981a).

Поскольку семейная ГХС является генетическим дефектом, при котором печень теряет способность удалять ЛПНП из циркуляции, разработанный метод (ЛПНП-аферез) Stoffel et al. (1981b) решили применить у 3-х пациентов с семейной ГХС (1 больной с гомозиготной и 2 больных с гетерозиготной формами заболевания).

У всех больных двухчасовая процедура ЛПНП-иммunoфереза

приводила к значительному снижению содержания общего холестерина в крови (55% у больного с гомозиготной формой ГХС, 63% и 74% соответственно у двух больных с гетерозиготной формой ГХС). Было так установлено, что снижение содержания холестерина в крови происходит за счет селективной адсорбции ЛПНП. Так, у одного из обследуемых больных к концу процедуры уровень содержания общего холестерина уменьшился с 470 мг/дл до 112 мг/дл, а содержание в плазме ЛПВП достоверно не изменилось. Аналогичные изменения были обнаружены и при проведении ЛПНП-иммunoфереза у других больных. При этом не отмечалось существенного уменьшения уровня содержания белка в плазме крови, но одновременно происходило приблизительно 75% падение уровня ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП. с соавт. (1981) считают, что снижение уровня ХС-ЛПОНП обусловлено содержанием в этих частицах апо-B-белка, адсорбирующегося на колонке с иммобилизованными антителами к ЛПНП. Цитируемые авторы также показали, что применение ЛПНП иммunoфереза не сопровождается побочными эффектами.

При сравнении полученных ими (Stoffel at al., 1981a) данных с результатами изучения использования аффинной хроматографии с использованием гепарин-агарозы и различных вариантов плазмообмена, Штоффель с соавторами привлекают внимание к тому обстоятельству, что ЛПНП-иммunoферез является более эффективной процедурой, не сопровождающейся побочными эффектами, так как не требует замены плазмы и не вызывает изменений онкотического и осмотического давления в крови. Были опубликованы данные, основанные на результатах изучения более чем 3-летнего применения ЛПНП-иммunoфереза у 6 больных с семейной ГХС. Процедуры ЛПНП-иммunoфереза выполнялись с частотой 1 раз в 7-10 дней каждому больному. Курс процедур оказался весьма эффективным:

содержание общего холестерина в плазме снизилось на 57-63% по сравнению с исходным уровнем (300-430 мг/дл). При этом уровень ХС-ЛПВП не изменился за период лечения» В среднем за 2,5-3 года было удалено у каждого больного около 16 г липопротеидов низкой плотности.

Были суммированы итоги шестилетнего опыта применения в клинике ЛПНП-иммунофереза с помощью сорбента. Авторы считают, что:

1. ЛПНП-иммуноферез позволяет добиться (при длительном его применении) существенного снижения уровня ЛПНП в плазме крови больных семейной ГХС.
2. Метод является эффективным в отношении регрессии ксантом.
3. В ходе применения ЛПНП-иммунофереза отмечается улучшение субъективного состояния больных с семейной ГХС.

На основании сравнения исходных и повторных коронарограмм пришли к выводу о том, что ЛПНП-иммуноферез способствует регрессии или, по крайней мере, задержке развития атеросклеротических изменений в венечных артериях сердца.

Последующие исследования Parker et al. (1986) подтвердили первые наблюдения о снижении уровня ЛПНП и возрастании уровня ЛПВП у больных с семейной ГХС, в течение нескольких лет подвергавшихся процедуре ЛПНП-иммунофереза.

В целом представленные в настоящем разделе данные свидетельствуют о том, что основным направлением терапии больных с семейной гиперхолестеринемией является поиск и совершенствование экстракорпоральных методов селективного удаления ЛПНП. Такой подход к лечению этого заболевания патогенетически обоснован, т.к. основной причиной его развития является неспособность гепатоцитов к катаболизму липопротеидов низкой плотности. Для удаления ЛПНП из организма больного в

настоящее время предложены гемосорбция, плазмообмен, аффинная хроматография, двойная фильтрация и ЛПНП-иммуноферез.

Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что из всех предложенных методов использования ЛПНП-иммунофереза является наиболее перспективным в терапии семейной ГХС. Однако клинический опыт применения ЛПНП-иммунофереза еще недостаточен для окончательного суждения о его преимуществах и недостатках. В частности, остаются неразработанными вопросы, касающиеся показаний и противопоказаний к применению ЛПНП-иммунофереза. Не проведено также исследований, направленных на изучение некоторых методических вопросов, связанных с использованием этого метода у больных с семейной ГХС. Наконец, не дана оценка эффективности ЛПНП-иммунофереза на основании изучения результатов длительного его использования у больных семейной гиперхолестеринемией.

1.4. Атерогенность плазмы больных с атеросклерозом коронарных артерий и возможные пути ее устранения

По мере накопления сведений по изучению роли липопротеидов в атерогенезе стали понятными и ограничения, не позволяющие связать все изменения, происходящие в области атеросклеротической бляшки, только с нарушениями в составе липопротеидов плазмы крови.

Следует отметить, что больные с наследственной гиперхолестеринемией IIА типа, для которых характерно формирование атеросклеротических изменений в сравнительно молодом возрасте, составляют отдельную группу, требующую применения специальных методов лечения.

Только у этой группы пациентов отчетливо прослеживается взаимосвязь между повышенным уровнем ЛПНП в крови и степенью

развития атеросклеротических изменений в артериях.

В то же время взаимосвязь между степенью выраженности изменений обмена липопротеидов и тяжестью атеросклеротических изменений в магистральных артериях у больных с отсутствием генетических аномалий в системе ЛПНП-рецепции, выражена не столь отчетливо (Lewis, Schnetter 1983). Прежде всего, даже в современных клиниках, в которых используются наиболее информативные методы биохимии и иммунохимии, имеются пациенты с выраженным атеросклеротическими изменениями артерий, но без достоверных показателей в нарушении содержания липопротеидов различных классов (Перова, 1982). Даже при использовании методов, позволяющих изучать качественные изменения липопротеидов, во многих случаях на основании результатов только биохимических исследований, невозможно получить убедительную информацию о тяжести атеросклеротического поражения артерий. Например, существуют пациенты с различными типами "атерогенных" дислипопротеидемий без документированного атеросклероза и клинических проявлений болезни.

Наиболее уязвимым местом липопротеидной гипотезы атеросклероза являются сведения об участии холестерина и липопротеидов в инициации и прогрессировании развития атеросклеротических бляшек в артериях. Попытки рассматривать атеросклероз только как хроническую интоксикацию "избытками" холестерина или ЛПНП ничего не объясняют, так как уровень холестерина в циркулирующих ЛПНП здоровой части населения в 4-5 раз превышает потребности органов и тканей в холестерине (Havel et al., 1982).

По данным клинико-патологоанатомических исследований, взаимосвязь между выраженностью нарушений в обмене липопротеидов (по данным прижизненного обследования больных) и

степенью атеросклеротических изменений в артериях не всегда отчетливо выражена. Инфильтративной теории атерогенеза противоречат и некоторые данные, полученные в условиях культивирования клеток. Показано, что рецепторный механизм поглощения ЛПНП не играет существенной роли в накоплении клетками липидов (Kruth, 2011). Установлено, что в превращении гладкомышечных клеток и макрофагов пенистые клетки определенное значение имеет модификация ЛПНП и неспецифический эндоцитоз ЛПНП клетками (Kruth, 2011).

Таким образом, липопротеидная гипотеза атерогенеза, несмотря на достаточно вескую аргументацию, не может рассматриваться как единственная научно обоснованная концепция, которая может стать основой для разработки методов диагностики и лечения всех заболеваний, развивающихся на почве атеросклероза магистральных артерий. Наблюдения, свидетельствующие о том, что не во всех случаях изменения в составе липопротеидов коррелируют с наличием и степенью выраженности атеросклеротических изменений артерий, могут быть интерпретированы как предпосылки к существованию других, наряду с липопротеидами низкой плотности, системных факторов, способствующих атерогенезу. В частности, получены данные, указывающие на роль образования иммунных комплексов с ЛПНП в развитии липоидоза сосудистой стенки (Sobenin et al., 2013). Не исключено, что наряду с липопротеинами низкой плотности имеются и другие системные факторы, обуславливающие развитие, по крайней мере, некоторых изменений, приводящих затем к атеросклеротическому поражению артерий. Об этом же свидетельствуют, в частности, и эксперименты Chen and Fischer-Droga (1977), в которых установлено, что при разведении сыворотки гиперлипидемичных животных до уровня, когда содержание в ней липопротеинов низкой плотности соответствовало содержанию

ЛПНП нормальной сыворотки, накопление липидов гладкомышечными клетками в культурах, в которые добавлялись сыворотки от гиперлипидемических обезьян, было выражено в значительно большей степени, чем в контроле. Такие данные могут свидетельствовать либо о качественных изменениях ЛПНП, либо о наличии других атерогенных факторов в плазме крови гиперхолестеринемических обезьян.

Эти данные могут иметь принципиальное значение для клинической практики. Действительно, лишь у больных с наследственной гиперхолестеринемией II-го типа, обусловленной дефицитом ЛПНП-рецепторов, с несомненностью можно говорить о том, что избыток ЛПНП в крови является ведущим фактором, инициирующим развитие атеросклеротической бляшки. Во многих других случаях взаимосвязь между количественными и даже качественными изменениями в системе липопротеидов доказана не столь отчетливо. В связи с этим важны данные А.Н. Орехова с соавт. (1986), свидетельствующие о наличии фактора атерогенности не липидной природы, у больных с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий. В обнаружении этого фактора и изучении его свойств определенную роль сыграла клеточная тест-система, предложенная цитируемым автором (Orekhov et al., 1982-1986).

В следующем разделе настоящей главы нами будут представлены данные, доказывающие адекватность этой тест-системы в изучении некоторых вопросов, связанных с совершенствованием диагностики атеросклероза у человека и изучением эффективности методов, применяемых в клинике для лечения этого заболевания.

1.4.1. Субэндотелиальные клетки интимы аорты человека: тест-система для диагностики атеросклероза и оценки действия

антиатерогенных препаратов

Если изменения свойств и содержания липопротеидов плазмы можно рассматривать как важнейший гуморальный фактор, способствующий возникновению атеросклероза, то сам процесс развития этого заболевания связан с изменениями клеточных элементов сосудистой стенки. Мозаичное, региональное развитие атеросклеротических поражений доказывает, что не липопротеиды и другие системные факторы, действующие одновременно на все клетки, а именно свойства клеток сосудистой стенки детерминируют развитие локальных очагов повреждений (Haust et al., 1978).

В начале 70-х годов представления о том, что источником клеток атеросклеротической бляшки являются модифицированные гладкомышечные клетки, определили одно из ведущих направлений в изучении механизма развития атеросклероза (Geer, Haust, 1972). В детальных электронно-микроскопических исследованиях ультраструктуры артерий животных было установлено, что в средней оболочке этих сосудов содержится только один тип клеток - гладкомышечные клетки, которые, по-видимому, должны обеспечивать всю полноту морфогенетических реакций сосудистой стенки в ответ на повреждение. На экспериментальных моделях, имитирующих атеросклеротические изменения, было показано, что основным источником клеток в фиброзной бляшке являются гладкомышечные клетки.

Как оказалось, эти клетки способны мигрировать из медии в интиму, модифицироваться из клеток, выполняющих сократительную функцию, в фибробластоподобные элементы, а также превращаться в пенистые клетки (Haust et al., 1978; 1984). В связи с этим в исследованиях, посвященных изучению роли сосудистой стенки в атерогенезе, большое внимание уделяли механизмам модификации гладкомышечных клеток, поиску факторов, индуцирующих эту

модификацию и выяснению молекулярных основ взаимодействия гладкомышечных клеток с другими компонентами сосудистой стенки в норме и при воздействии атерогенных факторов.

Экспериментирование на культурах гладкомышечных клеток начали широко использовать как адекватный методический подход для изучения действия "атерогенных" факторов. Оказалось, что в условиях тканевой культуры пролиферативному ответу ГМК всегда предшествует изменение их ультраструктурной организации, сходное с изменениями, происходящими во время модификации ГМК при развитии экспериментального атеросклероза у животных: они теряют миофиламенты и приобретают вид активно секретирующих клеток. Только в таком состоянии ГМК способны реагировать на воздействие митогенных факторов. Эти наблюдения подтвердили предположение о том, что модифицированные ГМК, обнаруживаемые в очаге атеросклеротического поражения, могут происходить из дифференцированных ГМК меди (Ross et al., 1984). Увеличение в интиме количества модифицированных ГМК в процессе прогрессирования атеросклеротической бляшки стали относить за счет способности модифицированных ГМК к более активной пролиферации (Ross et al., 1979).

В условиях тканевой культуры с использованием ГМК средней оболочки артерий животных было показано, что ЛПНП, ростовой фактор тромбоцитов, пептидный фактор, выделенный из эндотелиальных клеток, продукты деградации коллагена, ростовой фактор моноцитов, простагландины и ряд других гуморальных факторов способны вызывать пролиферативный ответ гладкомышечных клеток (Ross et al., 1984). Эти наблюдения были использованы в качестве еще одного аргумента в пользу правильности гипотезы об атеросклерозе как реакции сосудистой стенки на повреждение.

В целом полученные данные явились основой для пересмотра классических теорий атерогенеза и для становления гипотезы об атеросклерозе как реакции сосудистой стенки на повреждение (Ross, 1986). В пользу правильности этой концепции, как предполагали, свидетельствовали и данные о наличии большого количества модифицированных ГМК на разных этапах развития атеросклеротической бляшки.

Следует отметить, однако, что экспериментальные модели, имитирующие атеросклеротические изменения, не отражают всего многообразия процессов, имеющих место при атерогенезе у человека. Так, структура и клеточный состав атеросклеротической бляшки имеют ряд характерных особенностей, позволяющих отличать ее как от реактивных изменений сосудистой стенки человека на травматические, химические и иммунологические повреждения, так и от патологических изменений, возникающих в ответ на действия повреждающих факторов у животных (Орехов, 2013).

Привлекает к себе внимание и тот факт, что структура и клеточный состав интимы магистральных артерий человека в участках преимущественной локализации атеросклеротических бляшек резко отличаются от аналогичных показателей у большинства экспериментальных животных, для которых спонтанный атеросклероз не характерен.

Такие данные свидетельствовали о том, что концепция, объясняющая развитие атеросклеротических изменений в артериях у человека появлением модифицированных гладкомышечных клеток в интиме кажется несколько упрощенной.

В связи с изложенными выше фактами привлекает к себе внимание серия исследований, посвященных разработке методов раздельного культивирования клеток интимы и меди артерий человека, а также сравнительный количественный анализ клеточного

состава интимы и медии в динамике развития атеросклеротической бляшки у человека (Орехов, 2013). Была разработана методика, позволяющая выделить из аорты клетки так, чтобы при этом сохранялась та форма, которую они имели в сосуде (Krushinsky et al., 1983). Оказалось, что клетки даже непораженной интимы, выделенные из фиксированной аорты, по форме существенно отличаются от клеток медии. Было установлено, что популяция клеток медии однородна - большинство входящих в ее состав клеток имеет вытянутую форму, а по ультраструктуре - это типичные гладкомышечные клетки. Популяция клеток интимы, напротив, гетерогенна: составляющие ее клеточные элементы существенно различаются по форме и ультраструктуре.

Было также установлено, что клетки, различающиеся по форме, ультраструктуре, а также взаимодействию с моноклональными антителами к поверхностному гликолипиду, имеют различную локализацию в интиме (Орехов, 2013). В мышечно-эластическом субслое интимы, прилегающем к медии, располагаются преимущественно гладкомышечные клетки. В более поверхностных субслоях - эластико-гилерпластическом и соединительнотканном - локализуются отличные от гладкомышечных по ультраструктуре и взаимодействию с антителами клетки варьирующей формы.

Изучение клеточного состава в динамике развития атеросклеротического поражения позволило установить, что увеличение численности клеточной популяции происходит, в основном, за счет немышечных клеток поверхностных субслоев - в мышечном слое число клеток увеличивается всего на 10-40% (Орехов, 2013).

На основании полученных данных А.Н. Ореховым с соавторами было сделано заключение о том, что атеросклеротическое разрастание интимы обуславливается утолщением именно поверхностных слоев -

соединительнотканного и эластико-гиперпластического; толщина мышечного слоя при этом практически не изменялась. В бляшке толщина поверхностных слоев в 10-20 раз превосходила толщину мышечного. Накопление липидов и коллагена также происходило в основном в поверхностных слоях. Увеличение численности немышечных клеток было прямо и очень тесно связано с такими проявлениями атеросклероза, как утолщение интимы, накопление липидов, коллагена, гликозаминогликанов. На основании полученных данных А.Н. Орехов с соавт. пришли к заключению о том, что основные процессы, приводящие к развитию атеросклеротической бляшки, происходят в поверхностных слоях интимы, где локализуются преимущественно немышечные клетки.

Для изучения особенностей функционирования различных клеток аорты цитируемыми авторами была приготовлена первичная культура клеток, выделенных с помощью коллагеназы и эластазы из непораженной интимы и атеросклеротических поражений (Orekhov A.N. et al., 1983). Было показано, что в культурах, полученных из поверхностных слоев интимы, сохраняется полиморфизм, присущий субэндотелиальной клеточной популяции в сосуде (Orekhov A.N. et al., 1984). Клетки поверхностных слоев интимы, культивируемые из атеросклеротических поражений, содержали значительно больше липидов по сравнению с клетками мышечного слоя, в условиях культуры они синтезировали гораздо больше эфиров холестерина и триглицеридов. Эти клетки синтезировали в 2,5 раза больше коллагена, сульфатированных гликозаминогликанов и гиалуроновой кислоты по сравнению с клетками поверхностных слоев непораженной интимы (Orekhov A.N. et al., 1986). В то же время гладкомышечные клетки мышечно-эластического слоя интимы, культивируемые как из непораженной интимы, так и из бляшки, синтезировали приблизительно одинаковые количества коллагена и

гликозаминогликанов со скоростью в 1,5-4 раза меньшей, чем клетки поверхностных субслоев. На основании этих наблюдений было сделано заключение, что гладкомышечные клетки интимы и клетки немышечного происхождения, по-видимому, имеют различные функции в нормальной сосудистой стенке и играют разную роль в атерогенезе.

Было также показано, что клетки, выделенные из атеросклеротической бляшки, обладают большей способностью к накоплению ЛПНП, чем клетки, наделенные из макроскопически неизмененной интимы аорты (Orekhov A.N. et al., 1986). Оказалось, что и по способности включать H^3 -тимидин в ДНК клетки, выделенные из области липидных пятен и полос, обладали более высокими пролиферативными потенциями, чем клетки из непораженной интимы (Orekhov A.N. et al., 1983). На этой стадии развития атеросклеротического поражения отмечалось также увеличение числа клеток, принимающих асимметричную форму в первичной культуре.

В целом в серии исследований, проведенных А.Н. Ореховым с соавт., было установлено, что клетки, выделенные из атеросклеротической бляшки, отражают основные феномены атерогенеза: липоидоз, пролиферацию и избыточный синтез склеропротеинов (Орехов, 2013).

Группой сотрудников, руководимых А.Н. Ореховым, было также показано, что использование культуры клеток, выделенных из интимы аорты, позволяет тестировать атерогенные и антиатерогенные эффекты ряда фармакологических препаратов (Orekhov et al., 1986). Эта модельная система, позволяющая в строго контролируемых условиях оценить выраженность двух наиболее ярких феноменов атеросклероза - пролиферации клеток и накопления ими липидов - позволяет количественно оценить изменения, развивающиеся при

добавлении веществ, обладающих фармакологической активностью. Было установлено, что интимальные клетки, выделенные из атеросклеротических поражений аорты человека, в первичной культуре сохраняют ин виво характеристики, свойственные им *in situ*, а именно: повышенную пролиферативную активность и высокий уровень содержания липидов.

Цитируемые авторы исследовали влияние различных соединений на захват (^3H)тимидина и на уровень фосфолипидов, триглицеридов, холестерина и эфиров холестерина в клетках аорты. Такие эффекты, как ингибирование пролиферации клеток и/или понижение внутриклеточного содержания липидов, которые считаются антиатеросклеротическими ин виво они наблюдали ин витро при действии следующих веществ: дибутирил, циклической АМФ, холерного токсина, форсколина, метилизобутилксантина, стабильных аналогов простациклина, простагландинов Е2 и Д2, резерпина, альфа-токоферола, бутилированного гидрокситолуена, липостабила и липопротеидов высокой плотности.

Результаты исследований, проведенных группой А.Н. Орехова с соавт., позволяли предположить, что использование разработанной ими клеточной тест-системы может явиться основой для решения ряда вопросов, связанных с оценкой эффективности методов, применяемых для лечения больных с атеросклеротическими изменениями артерий.

А.Н. Орехов с соавт. использовали эту тест-систему для поиска системных факторов, которые, наряду с липопротеидами низкой плотности, могут принимать участие в инициации атеросклеротических изменений в артериях человека.

1.4.2. Аферез атерогенного фактора: патогенетические предпосылки

Считается общепризнанным, что накопление липидов в цитоплазме субэндотелиальных клеток интимы артерии - это наиболее

заметное и самое раннее проявление атеросклероза на клеточном уровне (Moore et al., 2013). Показано, что основным источником липидов, накапливающихся в области атеросклеротической бляшки, являются ЛПНП (Moore et al., 2013). Остаются, однако, неизвестными причины, лежащие в основе избыточного поглощения ЛПНП клетками интимы при атеросклерозе.

Предположения о том, что атеросклероз является следствием "избытка" циркулирующих ЛПНП, не подтвердились ни в клинических, ни в экспериментальных исследованиях.

Как уже отмечалось нами выше, обнаружить тесную корреляцию между степенью возрастания ЛПНП в крови и выраженностью атеросклеротических изменений в магистральных артериях не удалось (Орехов с соавт., 2012).

В экспериментах с использованием клеточных культур было показано, что ЛПНП-рецепторный механизм поглощения холестерина клетками не имеет существенного значения в процессе накопления липидов гладкомышечными клетками и макрофагами при атеросклерозе (Орехов с соавт., 2012). В многочисленных исследованиях с добавлением избыточных количеств ЛПНП в инкубационную среду установлено, что превращение этих клеток в пенистые основано на неспецифическом эндоцитозе ЛПНП, не обусловленном взаимодействием ЛПНП с соответствующими рецепторами плазмалеммы (Орехов с соавт., 2012).

При использовании культур гладкомышечных клеток артерий кроликов и обезьян было показано, что ЛПНП, выделенные из крови гиперлипидемичных животных, обладают большей способностью вызывать накопление внутриклеточных липидов, чем ЛПНП, полученные из нормолипидемических сывороток (Chen and Fischer-Droga, 1977). Клиновым с соавт., (1985) было установлено, что в процессе накопления липидов клетками интимы аорты кроликов

определенное значение имеют иммунные комплексы с ЛПНП.

Имеются также сообщения о том, что при инкубации макрофагов и гладкомышечных клеток в среде с высокими концентрациями ЛПНП липиды в клетках не накапливаются (Орехов с соавт., 2012). Существенное количество ЛПНП поглощается клетками только в том случае, когда используют химически модифицированные ЛПНП.

Представленные выше данные позволяли предполагать, что наряду с липопротеидами низкой плотности в крови больных атеросклерозом имеются и другие факторы, способствующие накоплению липидов в клетках сосудистой стенки. Однако правомерность такого предположения долгое время не была подтверждена в условиях прямого эксперимента.

Действительно, во всех цитированных выше исследованиях использовались сыворотка крови и/или липопротеиды, полученные у животных с экспериментальной гиперхолестеринемией. В то же время известно, что механизмы, лежащие в основе алиментарно индуцируемой гидерхолестеринемии у животных и процессы нарушения обмена липопротеидов у человека при атеросклерозе весьма различны. Более того, модели с использованием гладкомышечных клеток артерий животных, но уже упомянутым нами в предыдущем разделе причинам, могут быть неадекватными для изучения механизмов развития липоидоза, являющегося начальным этапом формирования атеросклеротических бляшек в артериях человека.

Было установлено, что сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца с ангиографически документированным атеросклерозом коронарных артерий вызывали 2-5-кратное накопление внутриклеточного холестерина в первичной культуре субэндотелиальных клеток непораженной интимы аорты человека.

Этим свойством, названным "атерогенностью", обладали сыворотки крови 85% обследованных больных. Сыворотки крови 77% здоровых лиц не проявляли атерогенных свойств в культуре (Chazov et al., 1986).

Было также показано, что под влиянием сыворотки крови больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий содержание эфиров холестерина в клетках увеличивается в 3-5 раз, свободного холестерина и триглицеридов - в 1,5-2 раза.

В цитированных работах было также выяснено, что способность сывороток вызывать накопление холестерина в клетках интимы аорты человека прямо коррелировала с соотношением апо-B/апо-A1 в сыворотке, но не с содержанием суммарного холестерина, ЛПВП-холестерина, апо-B или апо-A1.

На основании этих данных было высказано предположение о том, что сыворотка больных атеросклерозом венечных артерий сердца отличается от сыворотки здоровых лиц наличием фактора, индуцирующего процессы накопления липидов в субэндотелиальных клетках интимы аорты.

Дальнейшие эксперименты были направлены на поиск фактора, обуславливающего атерогенность сывороток больных с коронарным атеросклерозом. В частности, была изучена роль липопротеидов различных классов, полученных из сывороток больных ИБС и здоровых лиц, в аккумуляции липидов клетками. Было установлено, что ЛПНП из крови здоровых лиц не вызывали увеличения содержания внутриклеточных липидов в культивируемых клетках интимы аорты человека. В то же время ЛПНП из крови больных ИБС в концентрациях 200-1000 мкг/мл за 24 часа инкубации вызывали 2-5-кратное увеличение эфиров холестерина, а также 1,5-3-кратное увеличение свободного холестерина и триглицеридов в

культивируемых клетках.

Такие данные позволяли предположить, что у больных коронарным атеросклерозом происходят качественные изменения в составе ЛПНП. Результаты этих исследований, казалось бы, можно было рассматривать как дополнительное доказательство роли качественных изменений ЛПНП в патогенезе атеросклероза. Действительно, показаны особенности белкового и липидного состава липопротеидов различных классов у больных с ангиографически документированным атеросклерозом (Орехов с соавт., 2012). Имеются также сообщения об изменении иммунохимических свойств липопротеидов низкой плотности у больных атеросклерозом (Orehkov et al., 1991). В связи с этим можно было бы предположить, что атерогенные свойства ЛПНП, выделенных из сывороток больных ИБС, могут быть обусловлены качественными изменениями их состава.

Было установлено, что атерогенность ЛПНП может определяться присутствием в сыворотке какого-то фактора, который делает ЛПНП атерогенными (Orehkov et al., 1991). С помощью ультрацентрифугирования из атерогенной и неатерогенной сыворотки были выделены ЛПНП, а также получена липопротеин-дефицитная фракция сыворотки, которая практически не содержала липидов. При смешивании ЛПНП из неатерогенной сыворотки с липопротеин-дефицитной фракцией атерогенной сыворотки "нормальные" ЛПНП приобретали атерогенные свойства, т.е. становились способными вызывать накопление холестерина в культурируемых клетках. На основании полученных данных было сделано заключение о том, что в сыворотке больных присутствует нелипопротеидный компонент, который способен придавать атерогенные свойства исходно неатерогенным ЛПНП.

Эти данные легли в основу предположения о том, что

гипотетический нелипидный фактор сыворотки, который делает ЛПНП атерогенными, можно удалить из сыворотки, пропустив ее через колонку с иммобилизованными ЛПНП.

Была приготовлена колонка с ковалентно пришитыми аутологичными ЛПНП. Была проведена серия исследований, в ходе которых была обоснована целесообразность такого метода экстракорпоральной терапии в лечении больных ИБС с ангиографически верифицированным атеросклерозом венечных артерий сердца.

Было установлено, что сыворотки больных с исходно высокой атерогенностью после перфузии через колонку с иммобилизованными ЛПНП в значительной степени теряют свою способность вызывать накопление холестерина в клетках, выделенных из интимы аорты человека. На основании этих данных было сделано предположение, что атерогенный фактор, присутствующий в сыворотке больных ИБС, сорбируется на агарозе с иммобилизованными ЛПНП. Для изучения этого вопроса были проведены исследования, в ходе которых было установлено, что для устранения фактора атерогенности из плазмы крови больного целесообразно использовать сорбент на основе иммобилизованных аутологичных ЛПНП, включенных в систему экстракорпорального кровообращения.

Однако, несмотря на теоретическую обоснованность целесообразности использования метода афереза атерогенного фактора у больных с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца многие аспекты клинического использования этого метода остаются практически не исследованными. В частности, не установлены критерии, которые могут быть основаны при разработке показаний к применению метода афереза атерогенного фактора, не разработан режим использования этого метода и не дана оценка его терапевтической эффективности.

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о том, что к настоящему времени достигнуты значительные успехи в изучении структуры и функции липопротеидов различных классов.

В результате исследований данного направления значительно конкретизировались представления о роли липопротеидов низкой (ЛПНП), очень низкой (ЛПОНП) и высокой (ЛПВП) плотности в развитии атеросклероза и в патогенезе наследственных дислипидемий. Достижения в этой области фундаментальной кардиологии стали научной основой для разработки и совершенствования новых методов лечения заболеваний, обусловленных развитием атеросклеротических изменений в артериях. В частности, в серии исследований Гольдштейна и Брауна был расшифрован рецепторный механизм взаимодействия ЛПНП с клетками периферических органов и тканей. Использование современных методов и подходов клеточной биологии позволило выяснить патогенез одной из наиболее распространенных генетических аномалий - семейной гиперхолестеринемии.

Было установлено, что резкое возрастание уровня содержания ЛПНП в крови этих больных обусловлено уменьшением и/или нарушением функциональных свойств ЛПНП-рецепторов. Вследствие этого у больных семейной гиперхолестеринемией процессы катаболизма ЛПНП резко замедлены, а их постоянно высокий уровень содержания в крови является причиной развития ранних атеросклеротических изменений в магистральных артериях.

Исходя из современных представлений о патогенезе семейной гиперхолестеринемии, для лечения больных с данной патологией¹ предложен ряд методов экстракорпоральной терапии. Показано, что применение плазмообмена, аффинной хроматографии и двойной ультра-фильтрации позволяет добиться нормализации уровня содержания ЛПНП в крови. Однако многие вопросы, связанные с

применением этих методов экстракорпоральной терапии у больных семейной гиперхолестеринемии, остаются предметом дискуссий.

В частности, ряд авторов указывают на нецелесообразность применения плазмообмена в лечении больных с данной патологией, привлекая внимание к фактам о возможности побочных эффектов этого метода и отсутствии селективности удаления ЛПНП при плазмообмене.

Вместе с тем многие другие исследователи с успехом применяют Плазмообмен у больных семейной гиперхолестеринемией на протяжении 5-10 лет и сообщают о выраженным лечебном эффекте этих процедур.

В связи с вышеизложенным одной из задач проводимого нами исследования явилась оценка терапевтической эффективности и анализ возможных побочных эффектов плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией.

В связи с вышеизложенным другим направлением настоящей работы явилась конкретизация сведений о наиболее информативных критериях при разработке показаний к применению ЛПНП-иммunoфереза у больных семейной гиперхолестеринемией, выяснение степени селективности процедур ЛПНП-иммunoфереза в удалении из крови атерогенных классов липопротеидов, а также оценка лечебного эффекта этого метода экстракорпоральной терапии при длительном его использовании. Особый интерес, по нашему мнению, представляло выяснение вопроса о возможности регрессии атеросклеротических изменений в артериях у больных семейной гиперхолестеринемии под влиянием процедур ЛПНП-иммunoфереза. Для решения этой задачи мы сочли целесообразным использовать клеточную тест-систему, разработанную А.Н. Ореховым с соавторами. Как уже отмечалось нами выше, использование культуры субэндотелиальных клеток, выделенных из интимы аорты человека,

создает уникальную возможность для изучения динамики процессов, развивающихся в области атеросклеротической бляшки.

Данные литературы свидетельствуют также о том, что еще одним преимуществом этой модели является то, что результаты, полученные на первичной культуре клеток или на короткоживущей органной культуре интимы аорты человека, легко интерпретировать. Как показывает анализ литературных сведений, эффекты однократных процедур плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза весьма кратковременны. Для поддержания содержания холестерина и ХС-ЛПНП в крови на низком уровне необходимо многократное повторение этих экстракорпоральных процедур. Не исключено, однако, что применение фармакологических препаратов может привести к кумуляции антиатерогенного эффекта плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза и позволит добиться уменьшения частоты выполнения этих процедур.

Данные литературы свидетельствуют о том, что к настоящему времени созданы многочисленные гиполипидемические препараты с разнообразным механизмом действия. Следует, однако, отметить, что между процессами, развивающимися в области атеросклеротической бляшки и нарушениями в обмене липидов и липопротеидов не всегда существует прямая зависимость. По-видимому, существенный прогресс в области лечения заболеваний, обусловленных развитием атеросклеротических изменений в артериях, может быть достигнут при применении лекарственных средств, обладающих прямой антиатерогенной активностью.

В связи с вышеизложенным в одной из серий исследований, результаты которых будут изложены в главе настоящей работы, мы решили дать оценку прямого антиатерогенного эффекта некоторых фармакологических препаратов, применяющихся в кардиологической клинике. В этих исследованиях мы также сочли целесообразным

применить первичные культуры клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека, так как они сохраняют основные проявления атеросклероза на клеточном уровне. Более того, в серии исследований А.Н. Орехова с соавт. была доказана перспективность этой клеточной модели как тест-системы для скрининга антиатерогенных эффектов ряда биологически активных соединений.

Мы решили провести исследование, посвященное обоснованию целесообразности применения этого метода у больных с атеросклерозом венечных артерий и дать оценку перспективности его применения в клинической практике.

В процессе этой работы было решено изучить показания к применению метода афереза атерогенного фактора у больных ИБС, исследовать влияние однократной процедуры афереза на показатели атерогенности и липидного состава сыворотки крови этих больных, а также на основании анализа результатов длительного применения афереза атерогенного фактора дать оценку его терапевтической эффективности.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения основных вопросов, явившихся задачами настоящей работы, исследование было проведено на 195 больных (168 больных ИБС и 27 - с семейной ГХС), находившихся на лечении в отделениях симптоматических артериальных гипертоний, атеросклероза и хронической коронарной недостаточности. Оценку эффективности плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза производили у 9 больных наследственной гиперхолестеринемией и афереза атерогенного фактора - у 4 больных ишемической болезнью сердца.

2.1. Клиническая характеристика больных

Под нашим наблюдением находилось 168 больных с диагнозом "ишемическая болезнь сердца" (ИБС) в возрасте от 29 до 65 лет (табл.2).

Как видно из табл.2, из 168 находившихся под нашим наблюдением больных ИБС, 37 пациентов (22,2% от общего числа изученных) составляли лица молодого (30-40 лет) возраста. Значительно большим (54 человека) было количество больных среднего (41-50 лет) возраста. 77 больных были лица, возраст которых превышал 50 лет (45,8% от общего числа изученных).

Таблица 2

Распределение больных ИБС по возрасту и полу

Возраст (годы)	Пол				Всего	
	мужчины		женщины		ибс	%
	ибс	%	ибс	%		
30-40	32	19,0	5	3,2	37	22,2
41-50	48	28,5	6	3,8	54	32,3
Свыше 50	68	40,4	9	5,7	77	45,8
Всего	148	87,9	20	12,7	168	100

Количество мужчин (148 человек) было значительно большим, чем женщин (20 человек).

Диагноз "ишемическая болезнь сердца" устанавливали на основании тщательного клинико-инструментального обследования (характер жалоб, данные анамнеза ЭКГ в 12 отведениях, велоэргометрическая проба, данные коронарографии).

Клинические проявления заболевания характеризовались

наличием типичных приступов стенокардии покоя (160 человек) и напряжения (168 человек). У больных со стенокардией покоя боли за грудиной, иррадиирующие в левую ключицу и/или левую лопатку возникали обычно в ночное время, вне связи с выполнением физической нагрузки. У больных со стенокардией напряжения приступы загрудинных болей появлялись во время ходьбы (75 человек), при подъеме на лестницу (80 человек), а также при физическом переутомлении (13 человек). Боли за грудиной продолжительностью до нескольких минут возникали в среднем до 2-5 раз в день и купировались приемом 1-2 таблеток нитроглицерина.

По данным анамнеза, у большинства находившихся под нашим наблюдением больных (135 больных, 80,3% от всех обследованных) длительность заболевания составляла 2-5 лет. У 17 больных стенокардия покоя или напряжения была диагностирована впервые 7-8 лет назад. У 16 больных длительность заболевания не превышала 1 года.

У 87 больных ИБС, находившихся под нашим наблюдением, по данным анамнеза, а также на основании результатов ЭКГ-исследования в 12-ти стандартных отведениях имел место перенесенный инфаркт миокарда.

По данным ЭКГ-исследования у 25 больных ИБС, находившихся под нашим наблюдением, выраженных изменений ЭКГ обнаружено не было. У 30 больных (17,8% от всех обследованных) на ЭКГ отмечалась депрессия сегмента SH. У 18 больных (10,7%) имели место подъемы сегмента ST. У 87 больных (перенесших ранее инфаркт миокарда) на ЭКГ выявлялись рубцовые изменения сердечной мышцы. ЭКГ-признаки, указывающие на гипертрофию желудочков, были отмечены у 17,8% обследованных (30 человек). Нарушение атриовентрикулярной проводимости при ЭКГ-исследовании было обнаружено у 5 (2,9%) больных,

внутрижелудочковой проводимости - у 3 (1,7%) больных.

Для оценки тяжести клинического состояния больных ИБС использовали классификацию стенокардии, предложенную канадской ассоциацией врачей. Согласно этой классификации, из 168 больных ИБС, находившихся под нашим наблюдением, стенокардия I-го функционального класса была диагностирована у 13, II-го класса - у 57, III класса - у 67 и IV функционального класса - у 27 больных.

Из 195 больных, находившихся под нашим наблюдением, 27 пациентов страдали семейной гиперхолестеринемией Па типа (табл. 3). Диагноз семейная ГХС уточняли на основании тщательного клинического и лабораторного исследований.

Как видно из данных, представленных в табл. 3, из 27 больных с семейной ГХС, возраст двух пациентов не превышал 10 лет, 4 больных были в возрасте 50-56 лет, а остальные пациенты (21 человек) были в возрасте 29-46 лет. Относительное число женщин (9 человек, 33,3%) было большим, чем среди больных ИБС, не связанной с наследственными аномалиями в системе липопротеидов (см. табл. 2). Клинически эти больные характеризовались появлением признаков ИБС и инфаркта миокарда в сравнительно молодом возрасте.

Типичным для больных с семейной ГХС было наличие выраженных признаков стенокардии покоя и напряжения. По данным анамнеза, приступы загрудинных болей у них возникли в относительно молодом возрасте. 10 из 27 больных с лабораторно установленной семейной ГХС Па типа перенесли инфаркт миокарда (табл. 4). По данным опроса, близайшие родственники этих больных также страдали ишемической болезнью сердца.

Таблица 3

Общая характеристика больных с семейной гиперхолестеринемией

№№ пп	Ф.И.О.	№ ист. болезни	Возраст (годы)	Пол
1	Б.	852	29	ж
2	А-а	3359	54	ж
3	Б-н	897	39	м
4	С-н	51	41	м
5	К-в	1853	33	м
6	К-а	953	39	ж
7	Ф-н	509	46	м
8	П-в	2893	42	м
9	Б-в	749	43	м
10	Я-в	794	35	м
11	Р-а	180	8	ж
12	Ф-н	999	44	м
13	Х-в	664	9	м
14	П-о	265	37	м
15	Хр-в	1189	34	м
16	У-а	295	56	ж
17	С-а	275	50	ж
18	Ш-н	443	42	м
19	М-н	454	44	м
20	Б-г	990	44	м
21	Д-а	1051	29	ж
22	К-в	86	56	м
23	М-и	2137	37	м
24	К-в	883	46	м
25	Дж-а	1194	42	ж
26	С-в	936	37	м
27	К-а	110	37	ж

По данным анамнеза и результатам изучения выписок из историй болезни, у пациентов с семейной ГХС, проходивших курс лечения по месту жительства, имело место выраженное возрастание

уровня холестерина в крови (свыше 300 мг). Анализ анамнестических данных показал также, что попытки коррекции дислипопротеидемии диетой и антиатерогенными препаратами (холестирамином, мисклероном, липостабилом, никотиновой кислотой) остались безуспешными.

При осмотре привлекло к себе внимание наличие ксантоматозных изменений у большинства больных с семейной ГХС (17 человек, 62,9% от всех изученных). Ксантомы у 2 больных появились в возрасте до 10 лет, у 2 больных - от II до 20 лет и у 13 больных - старше 20 лет. Липоидная дуга роговицы обнаружена у 3 больных, туберозные ксантомы - у 11 больных (рис. 5-7).

При физикальном обследовании у большинства из обследованных нами больных (19 человек) с семейной ГХС выявлялись неспецифические признаки поражения миокарда: ослабление верхушечного толчка, расширение границ сердца влево, ослабление II тона на аорте и sistолический шум на аорте.

На ЭКГ у большинства больных (18 человек) с семейной ГХС имелись признаки гипертрофии миокарда и были выявлены нарушения ритма сердца.

По данным велоэргометрии (табл. 5) у большинства из обследованных наш больных с семейной ГХС толерантность к физической нагрузке была низкой (11 человек) и средней (11 человек). У остальных больных мощность пороговой нагрузки составляла 450-600 кгм/мин.

При коронароангиографическом исследовании у большинства больных с семейной ГХС были обнаружены выраженные атеросклеротические изменения венечных артерий сердца (табл. 6).

Таблица 4

Характеристика жалоб и данных анамнеза больных с семейной гиперхолестеринемией Па типа

№ пп	Жалобы		Данные анамнеза			Перенесен- ный ин- фаркт в возрасте, лет
	Симп- томы сте- нокард- ии	Кса- н- том	Симп- томы стено- кардии (впер- вые появи- лись в возрасте, лет)	Ксан- томы (впервые при- влекли внимание в возрасте, лет)	Гипер- холесте- ринемия (впервые устано- влена в возрасте, лет)	
1	+	+	18	18	18	Нет
2	+	+	42	17	32	Нет
3	+	+	39	27	31	Нет
4	+	+	43	44	47	Нет
5	+	+	32	35	32	Нет
6	+	+	32	34	34	34
7	+	+	18	27	27	41
8	+	-	32	Нет	30	Нет
9	+	-	35	Нет	30	39
10	+	-	30	Нет	31	Нет
11	+	-	41	Нет	36	38
12	-	+	Нет	3	3	Нет
13	+	+	Нет	5	4	Нет
14	+	+	31	Нет	30	31
15	-	+	31	Нет	31	31
16	+	-	54	34	35	Нет
17	+	+	30	24	32	Нет
18	+	+	35	32	34	Нет
19	+	+	27	Нет	42	43
20	+	-	34	Нет	30	43
21	+	+	35	Нет	4	Нет
22	+	+	40	40	39	Нет
23	-	+	Нет	27	27	Нет
24	+	+	40	35	30	40
25	+	+	35	32	35	35
26	+	-	25	Нет	29	28
27	+	-	21	нет	25	нет

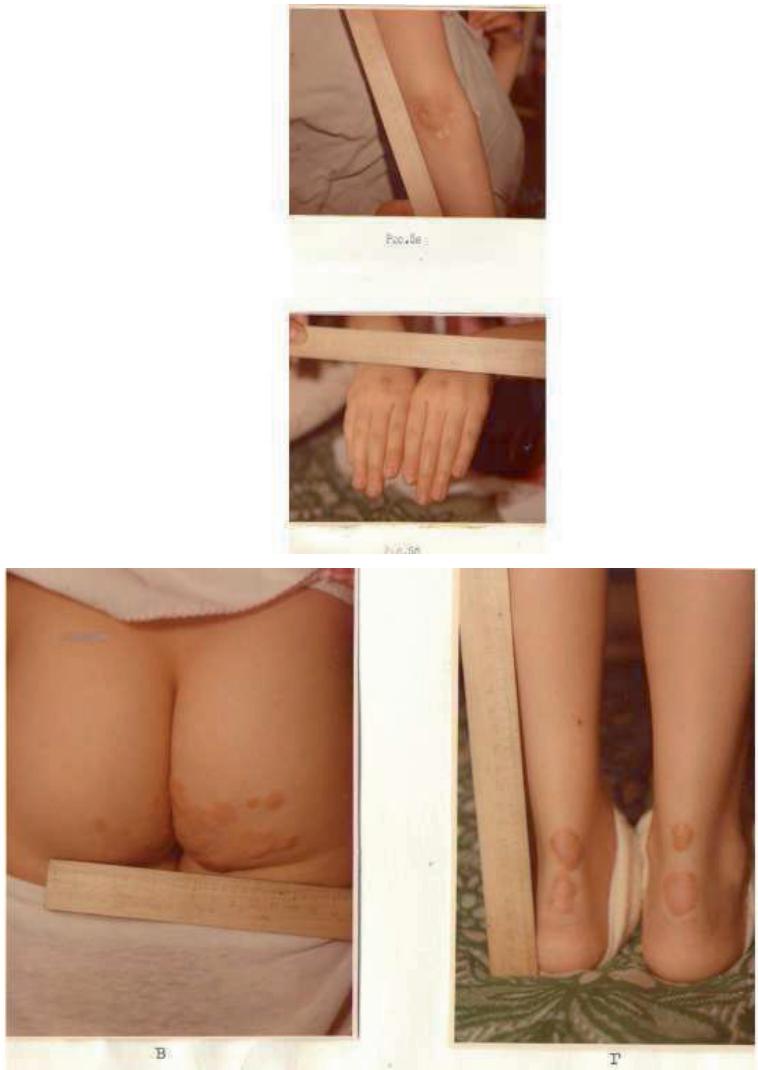


Рисунок 5. Ксантоматозные изменения, локализующиеся в области локтевого сустава (а), кистей рук (б), ягодиц (в), и ахиллового сухожилия (г).

Б-я Р., 8 лет. Диагноз – семейная гиперхолестеринемия ПА типа, гетерозиготная форма



Рисунок 6. Ксантоматозные изменения, локализующиеся в области локтевого сустава (а) и ахиллового сухожилия (б).

Б-й Ф., 46 лет, диагноз – семейная ГХС IIА типа



Рисунок 7. Ксантоматозные изменения у больных с семейной ГХС, локализующиеся в области лба (а, б-я Б., 29 лет), и в области локтевого сустава (б-й Х., 9 лет)



Рисунок 8. Ксантома, локализованная в области ахиллового сухожилия.

Б-я А., 54 года. Диагноз – семейная гиперхолестеринемия IIА типа, гетерозиготная форма

По данным изучения уровня холестерина в плазме крови для всех больных наследственной формой гиперхолестеринемии было характерным резкое увеличение концентрации этого соединения в крови (от 310 до 800 мг%). У этих больных имело место также возрастание уровня содержания ХС-ЛПНП, сочетающееся с показателями ХС-ЛПВП, не отличающимися от возрастной нормы (табл. 7).

Данные по изучению уровня холестерина в крови, а также результаты изучения липидных фракций и состава липопротеидов плазмы крови явились объективным критерием для выделения больных с семейной гиперхолестеринемией в отдельную группу.

2.2. Методы обследования больных

2.2.1. Инструментальные методы

Велоэргометрическое исследование. Всем больным было проведено велоэргометрическое исследование на аппарате Мингограф фирмы "Елема" (Швеция) с одновременной записью ЭКГ в 12 стандартных отведений. Для изучения толерантности к физической нагрузке пробу проводили методом ступенчатой непрерывно возрастающей нагрузки в положении больного сидя. Соответственно рекомендациям Д. М. Аронова (1982) первоначальную нагрузку, равную 150 кгм/мин, каждые 3 мин увеличивали на 150 кгм/мин до появления клинических (приступы стенокардии) или электрокардиографических критериев (отклонение сегмента ST от изолинии) прекращения пробы.

До нагрузки на каждой минуте пробы и в течение 10 минут отдыха измеряли артериальное давление и регистрировали ЭКГ в 12 отведениях.

Пробу считали положительной при наличии электрокардиографических признаков ишемии миокарда (снижение сегмента ST горизонтального или косовосходящего типа на 1 мм и более, длительностью 0,08 с точки j, косовосходящего снижения сегмента на 2 мм и более на расстоянии 0,08 с от точки j). Пробу считали сомнительной при появлении типичного приступа стенокардии без динамики ЭКГ и отрицательной - при отсутствии клинических и электрокардиографических признаков ишемии миокарда. При оценке результатов ВЭМ-пробы подвергали анализу также следующие показатели: мощность пороговой нагрузки (кгм/мин), объем выполненной работы (кгм/мин'), индекс "пульс-давление" (усл.ед.).

Таблица 5

Показатели велоэргометрической пробы с физической нагрузкой у больных семейной ГХС

№№ пп	Проба о физической нагрузкой	Мощность пороговой нагрузки (кгм/мин)	Тolerантность к физической нагрузке показатель степень (кгм/мин)
1	полож	300	низкая
2	полож	300	низкая
3	отриц	750	высокая
4	полож	600	средняя
5	полож	600	средняя
6	полож	150	низкая
7	полож	300	низкая
8	полож	300	низкая
9	полож	600	средняя
10	полож	600	средняя
11	полож	300	низкая
12	не	-	-
13	производили	-	-
14	не	300	низкая
15	производили	300	низкая
16	полож	600	средняя
17	полож	600	средняя
18	полож	600	средняя
19	полож	1050	высокая
20	полож	150	низкая
21	отриц	300	низкая
22	полож	450	средняя
23	полож	450	средняя
24	полож	-	-
25	полож	300	низкая
26	не	600	средняя
27	производили	450	средняя
	полож		
	полож		
	полож		

Таблица 6

Степень выраженности атеросклероза венечных артерий сердца у больных семейной гиперхолестеринемией

% стенозирования				
№№ пп	Передняя меж- желудочковая артерия	Правая венечная артерия	Огибающая артерия	Ствол левой коронарно й артерии
1		диффузные изменения		
2	80	75	0	0
3	50	0	0	0
4	70	75	50	50-60
5	82-92	0	0	0
6	70	75	60	75
7	75	60	75	-
8				
9	65	85	50	
10	75	0	0	0
11	65	0	0	0
12		не проводили		
13	75	70	0	0
14		не проводили		
15	70	60	75	0
16	80	75	0	0
17	0	0	0	0
18	75	30	50	0
19	75	70	0	0
20		не проводили		
21	50	0	0	0
22	50	85	50	0
23	0	0	0	0
24	0	75	75	0
25		не проводили		
26	50	60	0	0
27		не проводили		

Таблица 7

Липидный состав и содержание холестерина в липопротеидах различных классов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией

№№ пп	Возраст	Тип ГХС	Липиды			
			ХС	ТГ	ХС- ЛПНП	ХС-ЛПВП
1	29	IIА	668	199	587	41
2	54	"	580	103	525	33
3	39	"	391	170	324	39
4	41	"	478	86	404	58
5	33	"	410	198	340	31
6	39	"	469	126	409	35
7	46	"	509	131	443	40
8	42	"	486	286	385	41
9	43	"	543	121	485	32
10	35	"	310	78	244	50
11	44	"	312	64	262	32
12	8	"	604	100	555	31
13	9	"	486	174	417	39
14	37	"	791	191	695	40
15	34	"	348	196	268	40
16	56	"	480	206	399	40
17	50	"	690	205	609	40
18	42	"	602	199	523	39
19	44	"	572	216	494	39
20	44	"	440	147	371	11
21	29	"	610	140	545	37
22	56	"	354	123	298	34
23	37	"	400	124	336	40
24	46	"	398	170	342	40
25	42	"	603	199	524	39
26	32	"	606	195	528	39
27	37	"	450	200	372	38

Здесь и в последующих таблицах: ХС - содержание суммарного холестерина в плазме крови; ТГ - содержание триглицеридов; ХС-ЛПНП-содержание холестерина, входящего в состав липопротеидов низкой плотности в плазме крови; ХС-ЛПВП - содержание холестерина, входящего в состав липопротеидов высокой плотности в плазме крови.

На основании данных велоэргометрического исследования 86 больных, находившихся под нашим наблюдением (51,1% от общего числа обследуемых) имели низкую толерантность к физической нагрузке (150-300 кгм/мин), 56 больных - среднюю (450-600 кгм/мин) и 26 - высокую толерантность к физической нагрузке (750 кгм/мин и более).

Особенно низкими были показатели, полученные при велоэргометрическом обследовании лиц, страдающих наследственной формой гиперхолестеринемии.

Коронарная ангиография. О выраженности атеросклеротического поражения коронарного русла у больных ИБС судили по данным селективной коронарографии с учетом числа пораженных артерий, количества и степени стенозов и локализации их.

Ангиографическое исследование выполняли по методу Judkins (1967) на ангиографической установке «Angio-skop-C» фирмы «Simens» (ФРГ). Производили катетеризацию левой коронарной артерии. По левой коронарной артерии выполняли многопроекционную ангиографию левой и правой коронарных артерий, левую вентрикулографию в правой косой проекции под углом 30°С. В качестве контрастного вещества при ангиографии использовали малотоксическое трийодистое соединение - верографин.

Для визуальной оценки ангиограмм использовалась

кинопроекционная установка «Cipro-35» фирмы «Simens» (ФРГ) при разной скорости движения пленки. Степень поражения коронарных артерий определяли по методике, предложенной Петросяном и Иоселиани (1976).

На основании данных прижизненной коронароангиографии больные ИБС, находившиеся под нашим наблюдением, были разделены на 2 группы:

I группа - 156 больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом;

II группа - 12 больных ИБС с непораженными (по данным коронароангиографии) венечными артериями сердца.

Имелись некоторые особенности клинического состояния у больных ИБО в зависимости от наличия или отсутствия коронароангиографических признаков атеросклеротического поражения венечных артерий сердца. Так, средний возраст больных ИБС с ангиографически документированным коронарным атеросклерозом составил $56,2 \pm 4,5$ лет. Все они имели клинические проявления стенокардии напряжения или стенокардии напряжения и покоя. Распределение больных этой группы по функциональным классам (I-IV согласно Кандасской классификации) показало, что наименьший процент больных приходится на самый легкий (I) функциональный класс. Наибольший процент составили больные с III (46%) и II (39%) функциональными классами. Больные с IV функциональным классом составили 14,2%. 87 больных коронарным атеросклерозом (55,7%) в анамнезе имели перенесенный инфаркт миокарда, документированный данными ЭКГ. У 42 больных этой группы ИБС сочеталась с гипертонической болезнью I-II ст.

Больные ИБС с непораженными (по данным коронароангиографии) венечными артериями. Средний возраст больных этой группы составил $48,8 \pm 3,2$ года. Все больные, вошедшие

в данную группу, имели типичные приступы стенокардии напряжения (12 больных).

Анализ больных ИБС с непораженными (по данным КАГ) венечными артериями по функциональным классам показал, что большая часть больных относилась к I (4 больных) и II (8 больных) функциональным классам. Пациенты с III и IV функциональным классом среди больных данной группы отсутствовали, 4 больных из этой группы (33,3%) в прошлом перенесли инфаркт миокарда (I - крупноочаговый и 3 - мелкоочаговый, по данным ЭКГ). У 4 больных (33,3%) имелась гипертоническая болезнь I-II A ст.

Особенно выраженными были атеросклеротические изменения артерий у больных с наследственной формой гиперхолестеринемии.

Дополнительные методы инструментального обследования больных ИБС. 25 больным, находившимся под нашим наблюдением, было выполнено эхокардиографическое исследование, у 26 - была применена радионуклеотидная сцинтиграфия, у 37 больных - использовались фармакологические пробы, у 62 было назначено суточное ЭКГ- мониторирование.

Результаты этих инструментальных методов исследования использовались для дифференциальной диагностики.

2.2.2. Методы биохимических исследований

Биохимические методы были использованы для оценки степени выраженности нарушений обмена липидов и липопротеидов у находившихся под нашим наблюдением больных, а также для изучения эффективности применяемых методов лечения у этих больных.

Определение концентрации холестерина и триглицеридов плазмы крови, а также холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов. Кровь для исследований брали в пробирки, содержащие ЭДТА (1 мг на 1 мл плазмы крови) из локтевой вены утром, натощак, в первые 7-10 дней пребывания больного в стационаре (когда медикаментозного лечения практически не проводилось), а также в динамике проводимого лечения.

Концентрацию общего холестерина (ХС), и триглицеридов (ТГ) плазмы крови, а также холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов, проводили в изопропаноловых экстрактах плазмы крови на автоанализаторе АА-II фирмы "Техникон" (США). Применяли стандартный метод, используемый в липидных центрах с применением контроля качества выполняемых исследований Центра по контролю заболеваемости в г. Атланте, США (Lipid Research Clinics Programs, Manual of Laboratory Operations, 1974). Эта программа предполагает еженедельный анализ получаемых из Центра замороженных образцов контрольных сывороток с неизвестным для исследователя высоким, средним или низким содержанием ХС и триглицеридов, а также калибровочного материала и образцов внутреннего контроля качества и ежемесячное составление отчетов для сверочной (референтной) лаборатории. Таким образом, контроль качества определения ХС и триглицеридов принципиально не отличался от такового для большинства биохимических показателей и включал два основных этапа: проведение внутрилабораторного (внутреннего) контроля определения концентрации ХС и ТГ и выполнение программы стандартизованного межлабораторного (внешнего) контроля качества исследований или собственно стандартизации.

Определение ХС, входящего в состав ЛПВП (ХС-альфа ЛП) проводили на том же аппарате после осаждения из плазмы крови апо-

В, содержащих ЛП (ЛПНП и ЛПОНП) гепарином в присутствии хлористого марганца по принципу, предложенному Bumstein и соавт.(1970).

Содержание холестерина, входящего в состав липопротеидов очень низкой плотности, определяли по формуле:

$$\text{ХС-ЛПОНП} = \text{ТГ}/5$$

Содержание холестерина, входящего в состав липопротеидов низкой плотности, определяли по формуле:

$$\text{ХС-ЛПНП} = \text{ХС}_{\text{общ}} - (\text{ХС-ЛПОНП} + \text{ХС-ЛПВП})$$

Определение концентрации холестерина и триглицеридов плазмы крови, а также холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов, было произведено у больных, находившихся под нашим наблюдением, а также у 96 практически здоровых лиц, составивших контрольную группу.

Количественное определение apoA-1 и apo-B методом иммуноэлектрофореза («Ракетного»). Для определения содержания apoA-1 и apo-B мы использовали метод электроиммунодиффузии в количественном варианте, разработанный Laurell (1977) и модифицированный применительно к apo-1 в лаборатории, руководимой Alaupovic (Curry et al., 1976). Для этого использовали моноспецифические антисыворотки к apoA-1 и apo-B, полученные Перовой (1982).

Принцип метода. Метод основан на электрофоретической миграции в геле, содержащем антитела, и специфической иммунопреципитации антигенов посредством соответствующих прецидитирующих антител. При миграции антигенов в геле, содержащем антитела, образуются фигуры преципитатов, подобные ракете. Площадь, заключенная внутри преципитата или высота "ракеты" пропорциональна отношению антиген-антитело и зависит от концентрации антигена и

антител в системе. Поэтому метод подходит для иммунологической идентификации и количественного определения антигенов и/или антител. Сравнивая высоту "ракеты" неизвестного образца с высотой "ракеты", которую дает определяемые белок с известной концентрацией, можно определить концентрацию антигена в неизвестном образце.

Описанный выше метод "ракетного" иммуноэлектрофореза отличается высокой точностью, чувствительностью, простотой исполнения и небольшими затратами времени и позволяет определить содержание апоA-1 и апо-B в плазме»

Количественное определение содержания апоA-1 и апо-B производили у 38 больных ИБС и у 15 практически здоровых лиц (контрольная группа) в серии исследований, посвященных изучению "атерогенности плазмы" больных ИБС.

Оценка состояния нейроэндокринной системы. Для изучения побочных эффектов плазмообмена при его применении у больных с наследственной гиперхолестеринемией до и в динамике проводимого лечения производили количественное определение инсулина, самотропного гормона (СТГ), паратгормона, ангиотензина, альдостерона, эстрадиола, тестостерона, кортизона и кальцитонина.

Гормоны в образцах плазмы определяли радиоиммunoлогическим методом с применением наборов инсулина ("Рио-ИНС-ПГ¹²⁵ I); С-пептида («RIA-gnost-R-hC-peptid», ФРГ), уровень которого отражает синтез инсулина; тестостерона («Chelsea Hospital», Англия); кортизола («КОРТ-I³-Н»); гормонов, регулирующих обмен кальция - паратгормона («PTH, BYK Mallincordt», ФРГ) и кальцитонина («hCt-II , BYK Mallincordt»,ФРГ), эстрадиола, альдостерона, соматотропного гормона (СТГ) и ангиотензина I по активности ренина плазмы - АРТ (наборами фирмы

«Sorin Eiomedica», Италия). Радиометрию образцов производили на сцинтилляционном β -спектрометре «Mark-III, Searle Inc (США) с использованием сцинтилляционной жидкости КС-8 и счетчика «Minigamma, LKB» (Швеция).

Определения фибронектина, фибрина, иммуноглобулина A, M и G. Для изучения побочных эффектов применения плазмообмена у 9 больных семейной гиперхолестеринемией до и в динамике проведения процедуры изучали содержание фибронектина, фибрина, иммуноглобулина A, M и G иммуноферментными методами (Elisa) с использованием поликлональных антител и тест-систем.

Для определения содержания фибронектина в плазме крови в лунки полистироловых планшетов «Linbro» (США) помещали аффинные антитела кролика к фибронектину человека (10 мкг/мл в 0,01 М карбонатном буфере с pH 9,6). Иммобилизацию антител проводили в течение 15-18 часов при 4°C. Затем в лунки предварительно отмытых планшетов вносили исследуемые образцы плазмы (по 0,2 мл), разведенной в концентрации 1:1000 в фосфатно-солевом буфере pH 7,2 с твин-20 (0,05%), После получасовой инкубации антител к фибронектину с пероксидазой из корня хрена в количестве по 0,2 мл. Через 30 мин лунки планшетов вновь отмывали и заполняли субстратной смесью (30% раствор перекиси водорода + 0-фенилендиамин по 0,2 мл). Результаты реакции учитывали через 9 мин на микрофотометре (длина волны 492 нм). Количество фибронектина, соответствующее экстинкции, определяли по калибровочной кривой, для которой готовили ряд разведений фибронектина.

Для определения содержания иммуноглобулинов в лунки полистироловых планшетов "Linbro" (США) помещали аффинные антитела к иммуноглобулинам A, M и G (Курманова с соавт., 1984).

Иммобилизацию антител проводили в течение 15-18 часов при 4°C. Затем в лунки предварительно отмытых планшетов вносили исследуемые образцы плазмы (по 0,2 мл), разведенной в концентрации 1:1000 в фосфатно-солевом буфере pH 7,2, инкубировали 1 час при 37°C. После отмыва несвязавшегося белка выявляли связанную с носителем ферментативную активность, используя в качестве хромогена 5-аминосалициловую кислоту при 450 нм. Отмывку во всех случаях проводили водопроводной водой с 0,05% твина-20. Разведения антигена и коньюгатов готовили на забуференном физиологическом растворе.

Определение функциональной активности тромбоцитов. Для изучения побочных эффектов при проведении процедур плазмообмена и иммунофереза липопротеидов низкой плотности у больных с семейной гиперхолестеринемией до и в динамике проводимого лечения изучали адгезию и агрегационную способность тромбоцитов.

Для получения тромбоцитов кровь (9 мл) собирали непосредственно перед началом и сразу после окончания процедуры, в пластиковые пробирки, содержащие 1 мл 3,8% цитрата натрия. Эритроциты и лейкоциты осаждали центрифугированием при 150 g (10 мин, 22°). Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) отбирали, фиксировали ее объем, а осадок повторно центрифугировали для получения плазмы без тромбоцитов. Счет тромбоцитов в ОТП проводили с помощью автоматического счетчика тромбоцитов ТОА Р-100, Sysmex, Япония. После измерения концентрации тромбоцитов и объема ОТП определяли общее количество тромбоцитов в ОТП. Для исследования агрегации и адгезии тромбоцитов ОТП разводили плазмой до концентрации тромбоцитов 2×10^8 в мл. Все исследования проводили в течение 2 час после взятия крови.

Агрегация тромбоцитов. Агрегацию тромбоцитов регистрировали, используя двухканальный агрегометр Payton (США). Определяли пороговые дозы АДФ и U46619, вызывающие необратимую агрегацию. АДФ добавляли к ОТП с шагом 0,5 мкМ, а U46619 - с шагом 0,1 мкМ.

Адгезия тромбоцитов. Уровень адгезии и распластывания тромбоцитов на поверхности, покрытой коллагеном IV типа (KIV) определяли, проводя подсчет числа адгезированных и распластанных тромбоцитов с помощью сканирующей электронной микроскопии по методу, описанному ранее Leytin et al. (1980). 250 мкл ОТП добавляли в ячейки культуральных пластин Multiwell, дно которых было предварительно покрыто KIV и инкубировали 20 мин 37° без перемешивания. После окончания инкубации неадгезированные тромбоциты дважды отмывали фосфатно-солевым буфером. Адгезированные тромбоциты фиксировали 2,5% глютаровым альдегидом (1 час, 37°), затем препараты высушивали и напыляли платиной/палладием. Изучение тромбоцитов производили в сканирующем электронном микроскопе фирмы Phillips PS3M x 500 (Нидерланды). Подсчитывали общее число распластанных и нераспластанных тромбоцитов, адгезированных на мм² KIV (адгезия) и процент распластанных тромбоцитов от общего числа адгезированных (распластывание).

Изучение ЛПНП-рецепторов иммуноферментным методом. ЛПНП, модифицированные малоновым диальдегидом ЛПНП (МДА-ЛПНП) и липопротеид-дефицитную сыворотку (ЛДС) получали по ранее описанным методикам (Preobrazhensky et al., 1985; 1986). Концентрацию нативных липопротеидов оценивали по белку методом Lowry (1951), используя бычий сывороточный альбумин в качестве стандарта, а содержание аполипопротеида В в МДА-ЛПНП - с

помощью иммуноферментного метода (Kosykh et al., 1985). Мечение ^{125}I проводили по методу Bilheimer et al. (1972).

Фибробlastы здоровых доноров и больных семейной ГХС получали из эксплантов кожи внутренней поверхности предплечья. Линии фибробластов CM2000 и CM2408 были получены из Human Genetic Mutant Cell Repository (Camden N.I.). При культивировании клеток применялись среды и сыворотка фирмы Flow и культуральная посуда Nunc. Для проведения определений иммуноферментным методом фибробlastы (3-5 пассаж) сажали в 100 мкл минимальной среды Игла (MEM) с 10% фетальной сыворотки в ячейки 96-ячеичного микротеста с плотностью $4 \times 10^3/\text{ячейку}$; при анализе радионуклидным методом клетки сажали в 1 мл среды в 35 мм пластиковые чашки Петри с плотностью 2 млн/чашку. На пятый день клетки прошивали фосфатным буфером и добавляли среду MEM с 10% ЛДС (среда А). Эксперимент начинали через 48 часов после смены среды. Определение катаболизма ЛНП радионуклидным методом проводили ПО Методике Goldstein et al. (1983).

Поликлональные моноспецифические антитела козы к человеческим ЛПНП и конъюгат этих антител с пероксидазой хрена получали по методикам Preobrazhensky et al. (1985). Для оценки связывания ЛШП фибробlastы инкубировали со 100 мкл среды А, содержащей различные концентрации комплекса ЛПНП (или МДА-ЛНП) с конъюгатом в соотношении 1:1. В специальном эксперименте было показано, что при таком соотношении конъюгат не влияет на включение в клетки ЛНП. После 3-х часов инкубации при 37° с клетки отмывали от несвязавшихся комплексов, лизировали 0,5% раствором Тритона X-100, после чего в ячейки добавляли субстратную смесь. Реакцию останавливали добавлением 50% серной кислоты. Ранее было показано, что в таких условиях оптическая плотность раствора при 490 нм пропорциональна количеству ЛПНП, включенных в

клетки с Preobrazhensky et al., 1986).

Дополнительные методы исследования. Больным с семейной гиперхолестеринемией, которым назначались процедуры ЛПНП-иммunoфереза (5 человек), а также больным с ИБС и ангиографически документированным атеросклерозом, которым проводился аферез атерогенного фактора (4 человека), наряду с описанными выше методами, применялись:

- 1) эхокардиография, 2) суточное мониторирование ЭКГ, 3) сцинтиграфия миокарда с в сочетании с велоэргометрией, 4) гематологическое (общий анализ крои с определением количества эритроцитов и тромбоцитов, гематокрит), 5) биохимическое: а) липиды плазмы крови (ХС, ТГ, ХС-ЛПВП), б) коагулограмма, антитромбин III, в) электролиты K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^- , PO_4 , Mg^{++} , сывороточное железо, г) ферменты: аспартатаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа и изоферменты щелочной фосфатазы, д) сахар крови натощак, е) креатинин, мочевина, проба Реберга, ж) иммуноглобулины A, G и M, з) билирубин, общий белок и белковые фракции, мочевая кислота, 6) определение антигена гепатита В, 7) общий анализ мочи.

Полное клинико-инструментальное и биохимическое обследование больных проводили до и в конце курса применяемого лечения. Эти методы, наряду с оценкой показателей степени восстановления обмена липопротеидов и уровня холестерина в крови явились основой для заключений об эффективности применяемых нами экстракорпоральных методов лечения (ЛПНП-иммunoферез и аферез атерогенного фактора).

2.3. Методы лечения больных

Больные, находившиеся под нашим наблюдением, проходили

курс симптоматической терапии. Для устранения приступов стенокардии больные принимали нитроглицерин в таблетках, количество которых варьировало в зависимости от частоты и выраженности болевого синдрома. Кроме того, им был проведен курс лечения нитратами пролонгированного действия. Больные во время прохождения курса лечения в клинике получали бета-блокаторы, антагонисты кальция и, по показаниям, гипотензивные препараты.

Больные с наследственной гиперхолестеринемией, наряду с симптоматическими лекарственными средствами, содержались на диете, снижающей холестерин, и проходили курс лечения гидолишидемическими препаратами: клофибратором, холестеринамином, никотиновой кислотой, липостабилом и др. Поскольку дието- и фармакотерапия у этих больных не позволяла добиться существенного эффекта в отношении нормализации уровня общего холестерина и холестерина, входящего в состав ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП, у них были применены лечебные процедуры, подробная характеристика которых приведена в настоящем разделе.

2.3.1. Плазмообмен был применен у 9 больных, страдающей семейной гиперхолестеринемией

Всего проведено 146 процедур лечебного плазмообмена (ПО) на клеточном сепараторе крови модели 2997 фирмы IBM (США) в объеме от 30 до 46 мл на 1 кг массы тела с интервалом от 7 до 14 дней. Средний объем удаляемой плазмы составил 2200-34,0 мл. Замещение удаляемой плазмы на 65-75% проводили раствором альбумина (1300*20 мл) и на 25-35% физиологическим раствором с добавлением раствора хлорида калия до концентрации 3 ммоль/л.

Для обеспечения кровотока катетеризировали две периферические вены. Скорость кровотока колебалась от 30 до 65 мл/мин (в среднем $40 \pm 1,6$ мл/мин). Объем перфузируемой через

аппарат крови составил 3500-6500 мл (в среднем $3956 \pm 157,9$ мл). Скорость отделения плазмы равнялась 15-35 мл/мин (в среднем $23 \pm 0,9$ мл/мин). Скорость вращения центрифуги составила 1700 об/мин, продолжительность процедуры - от 80 до 180 мин (рис. 9).

В 70% наблюдений дозированную антикоагулянтную терапию во время процедуры проводили раствором АСД-А (антикоагулянтный раствор декстрозы, формула А) с добавлением 5000 ЕД гепарина со скоростью 1 мл на 16-18 мл протекающей через сепаратор крови. В 30% наблюдений антикоагулянтную терапию проводили раствором гепарина (в среднем 16500 ± 400 ЕД на процедуру).

До плазмообмена, в процессе его проведения и после окончания определяли АД, частоту сердечных сокращений, температуру и массу тела, объективно оценивали состояние больного.

До и после процедуры исследовали содержание общего холестерина (ХС), триглицеридов, ХС липопротеидов низкой плотности, ХС липопротеидов высокой плотности, ХС липопротеидов очень низкой плотности, общего белка и белковых фракций, концентрацию в плазме электролитов (калий, натрий, кальций, магний, хлор, фосфаты), гематокрит, вязкость и осмолярность крови, уровень фибриногена, глюкозы, кислотно-щелочное состояние (КЩС), содержание общих циркулирующих иммунных комплексов, иммуноглобулинов классов М, А и G. Ежемесячно в процессе лечения делали общие анализы крови и мочи, регистрировали ЭКГ.

До процедуры ПО и в процессе ее проведения больные находились на диете, снижающей холестерин.



Рисунок 9. Принципиальная схема плазмообмена

Одновременно всем больным проводилась комбинированная антиангинальная терапия нитратами пролонгированного действия, бета-адреноблокаторами, антагонистами кальция в различных сочетаниях и дозах.

2.3.2. Иммуноферез липопротеидов низкой плотности (ЛПНП-иммуноферез)

После 14-24 процедур плазмообмена у 5 больных семейной гиперхолестеринемией была применена процедура иммунофереза липопротеидов низкой плотности. Для изучения возможности специфического удаления из плазмы крови больных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) путем аффинной хроматографии с использованием антител (АТ) был применен сорбент, разработанный Покровским с соавт. (1985). В основе этого сорбента содержатся иммобилизованные моноспецифические поликлональные АТ козла против ЛПНП человека, ковалентно связанные с агарозой. Опытами *ин витро* показано, что указанный сорбент обладает способностью

высокоселективного связывания из плазмы крови человека ЛПНП (Покровский с соавт., 1985). Группой сотрудников, руководимых С.Н. Покровским, был отработан режим регенерации сорбента, что открывает возможность его многократного использования. Методами двойной иммунодиффузии, иммуноэлектрофореза, аналитического ультрацентрифугирования, электрофореза в полиакриламидном геле и электронной микроскопии доказано, что препарат ЛПНП, полученный путем аффинной хроматографии, практически не отличается от препарата ЛПНП, выделенного стандартным способом с помощью ультрацентрифугирования. Созданный сорбент был использован в клинике для иммуносорбции в процедуре афереза ЛПНП у больных с наследственной формой гиперлипидемии ПА типа.

При ЛПНП-иммуноферезе (рис. 10,11,12) плазму больного пропускали через 2 иммуноадсорбционные колонки, содержащие 400 мг BrCN-сепарозы с иммобилизованными антителами из расчета 5-7 мг/мл. В определенное время плазму, в зависимости от скорости насыщения колонки, отделенную путем обычного плазмафереза, пропускали через одну из двух колонок, а затем иммуноадсорбированную плазму с пониженным содержанием ЛПНП смешивали с красными кровяными тельцами и возвращали к больному. Описанная система способствовала одновременному прохождению плазмы через одну колонку, в то время как другую колонку регенерировали для повторного использования в случае необходимости. Таким образом, колонку можно было использовать один, два и три раза в течение одной процедуры и достигать соответствующего понижения уровня холестерина, входящего в состав ЛПНП, сводя до минимума экстракорпоральный объем.

Аппаратура для проведения иммуносорбции состоит из: клеточного сепаратора IBM 2997 (США), двух колонок, содержащих антитела к ЛПНП (I), специально предназначенных для данного

больного, и регулирующего устройства (2), которое поддерживает колонки и обеспечивает их многократное использование и регенерацию в ходе каждого отдельного ЛПНП фереза. Кроме того, использовали систему трубок к клеточному сепаратору и регулирующему устройству. Также применяли специальные растворы для регенерации колонок: глицин HCl pH 3,0 и фосфатный буферный, физиологический раствор в соответствующих количествах.

Сепаратор IBM 2997 снабжен системой трубок и заливается также, как для обычного плазмофереза. Откачиваемая насосом плазма по системе трубок поступает в регулирующее устройство (2). На рисунке показана схема этого устройства, расположение колонок в нем и соответствующая система трубок.



Рисунок 10. Общий вид аппаратуры для выполнения процедуры ЛПНП-иммунофереза



Рисунок 11. Колонки с антителами, иммобилизованными на сепарозе, для выполнения процедуры ЛПНП-иммунофереза

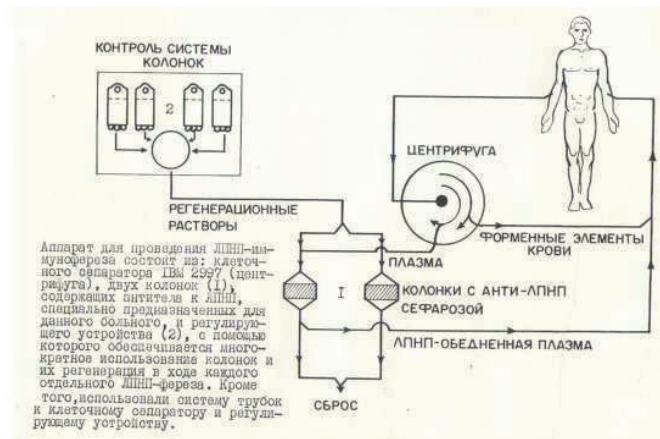


Рисунок 12. Принципиальная схема проведения процедуры ЛПНП-иммунофереза

Аппарат для проведения ЛПНП-иммунофереза состоит из: клеточного сепаратора IBM 2997 (центрифуга), двух колонок (1), содержащих антитела к ЛПНП, специально предназначенных для данного больного и регулирующего устройства (2), с помощью которого обеспечивается многократное использование колонок и их регенерация в ходе каждого отдельного ЛПНП-фереза. Кроме того, использовали систему трубок к клеточному сепаратору и регулирующему устройству.

В устройство вмонтированы две колонки (1), в нем имеется собственная специальная система трубок и соответствующим образом соединенные колонки. Поступление плазмы в устройство с колонками происходило в результате оттока плазмы из сепаратора IBM 2997. При возвращении к больному выходящую из регулирующего устройства плазму прокачивали через трубку стандартного насоса, что способствовало прохождению и рекомбинации в сепараторе IBM 2997 очищенной плазмы с красными кровяными тельцами больного.

Регулирующее устройство (2) оснащено отдельным насосом для регенерации колонок и четырьмя резервуарами, каждый емкостью 1 лит, для регенерирующих растворов, в следующем порядке: 1) физиологический раствор, 2) глицин HCl, 3) фосфатный буфер, 4) физиологический раствор. Каждый из резервуаров установлен в определенном положении и связан соответствующей системой трубок. Заполняли систему трубок регенерации и систему трубок плазмы в регулирующем устройстве физиологическим раствором и полностью удаляли воздух из системы. После этого аппарат был готов для подсоединения к нему больного и проведения иммуносорбции.

Аппарат подключали к больному путем введения 2-х катетеров Тегумо 17 размера в срединные локтевые вены. Кровь разделяли в сепараторе на клеточные элементы и плазму; отделенную плазму пропускали через колонку, содержащую антитела, а затем, очищенную от ЛПНП плазму, смешивали с красными кровяными тельцами и возвращали к больному. Когда первая колонка с ЛПНП насыщалась с помощью регулирующего устройства, осуществляли переход плазмы на вторую колонку, в то время, как первая колонка подвергалась регенерации, а на второй колонке только теперь начиналась обработка нового количества плазмы. Когда вторая колонка насыщалась холестерином (колонка с сефарозой приобретала желтый цвет), а первая колонка регенерировалась. Цикл можно было возобновить, используя для сорбции 1 колонку. Таким образом, ЛПНП-иммуноферез можно было повторять несколько раз, подключая то одну, то другую колонку системы так, чтобы одна из них проходила регенерацию, что позволяло оператору достичь необходимого снижения уровня холестерина. После того, как плазма была пропущена через необходимое число раз, процесс заканчивался и вся обработанная плазма возвращалась к больному. Процесс фереза продолжался 2-3 часа. Продолжительность его варьировалась в

зависимости от скорости плазматока.

Перед процедурой гепарин вводили болюсом в локтевую вену по 5000 ед. в каждую. Антикоагуляцию достигали при использовании цитратного раствора дексстразы АСД-А или же одного гепарина в дозе 16*20000 ЕД на процедуру. В начале процедуры начинали подавать крови и антикоагулянт в соотношении 16 мл/1 мл. В ходе ЛПНП-фереза соотношение постепенно снижалось до 20:1 в зависимости от переносимости к цитрату. Кроме того, обращалось внимание на сохранение абсолютной скорости потока антикоагулянта: она должна была быть меньше 3 мл/мин.

Контрольные наблюдения за больными в ходе лечения

Больные тщательно наблюдались до, во время и после лечения. Соответствующая информация заносилась в определенную форму «Протокол ЛПНП-иммunoфереза» до начала лечения больных взвешивали и измеряли кровяное давление, пульс и температуру.

Когда процедура заканчивалась, больного взвешивали, опять измеряли давление, пульс и температуру. Наблюдение за деятельностью сердца во время процедуры производили с помощью ЭКГ-мониторирования.

Лечение. Весь курс лечения ЛНП-иммunoферезом подразделялся на два этапа. К первому этапу, продолжительностью в 16 недель, относился подготовительный период. Во время подготовительного периода производили:

1. Подготовку больного к проведению экстракорпоральных методов лечения. С этой целью применяли курс процедур плазмообмена (14-24 процедуры).

2. Подготовка колонок к повторному их использованию. Это достигалось путем обычных обменов плазмы в течение 2-х процедур. Производили обмен 2000 мл плазмы с замещением ее 1500 мл

альбумина и 500 мл физиологического раствора. 1000 мл плазмы больного пропускали через каждую колонку для подготовки их к использованию.

Тест на пирогенность осуществлялся на кроликах. После получения 3-х результатов из лаборатории, колонки были готовы к работе между процедурами колонку хранили при температуре +4°C в консервирующем растворе (фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,04% аозида натрия). При повторном использовании сорбент предварительно промывали стерильным физиологическим раствором.

3. Определение необходимой частоты проведения ЛПНП-афереза с этой целью производили мониторное определение скорости снижения и восстановления уровня содержания холестерина в крови в течение 10 дней. Следующую процедуру назначали в зависимости от скорости восстановления уровня холестерина.

4. Определение толерантности больного, учитывая влияние на картину крови, баланс электролитов, функцию почек, токсичность печени, уровни белка и иммуноглобулинов.

Второй этап - фаза лечения, во время которой ЛПНП-иммunoферез, частота которого определялась во время подготовительного периода, когда устанавливали необходимый уровень холестерина, проводился через определенные промежутки времени (обычно через каждые 7-10 дней в течение всего курса лечения).

Подготовительный период продолжался около 16 недель, а на фазу лечения приходилось все остальное время (от 6 мес. до 2 лет).

Через каждые 2 месяца применяемого курса ЛПНП-иммunoфереза оценивали состояние больного с использованием общеклинических, инструментальных и биохимических методов.

В процессе лечения производилось:

1) определение содержания холестерина и ХС-ДПНП, ХС-ЛПОНП и

ХС-ЛПВП;

- 2) общий анализ крови - через каждые 2 недели;
- 3) определение активности ферментов печени;
- 4) оценка состояния больного с помощью инструментальных методов: велоэргометрия и длительное ЭКГ - мониторирование с помощью аппарата Холтера;
- 5) полное обследование - в начале и в конце проведенного курса лечения»

Об эффективности ЛПНП иммунофереза судили по снижению содержания общего холестерина, ХС-ЛПНЯ и ХС-ЛПОНП в плазме крови до и через каждые 2 месяца курса проведенного лечения. Основой для заключения о результатах проведенного лечения явились также данные клинико-инструментального обследования больных.

2.3.3. Аферез атерогенного фактора

Использовалась колонка сефарозы с ковалентно пришитыми аутологичными ЛПНП (рис. 12а).

Процедура удаления фактора атерогенности (ФА) производилась по той же схеме (см. рис. 12) и на той же аппаратуре (см. рис. 12), которая использовалась для ЛПНП-иммунофереза. При аферезе атерогенного фактора плазму больного пропускали через колонку, содержащую аутологичные ЛПНП, иммобилизованные на сефарозе методика была аналогична той, которую использовали при выполнении процедуры ЛПКП-иммунофереза.

Так же, как и при проведении ЛПНП-иммунофереза, в схеме лечения больных ИБС с помощью фереза атерогенного фактора, выделяли 2 периода: подготовительный период и fazу лечения.

В подготовительном периоде больной проходил курс первичного обследования (см. схему). В этот же период готовились колонки с аутологичными ЛПНП.

После приготовления индивидуальной для данного больного колонки, сорбирующей фактор атерогенности и определения оптимального для данного больного интервала между процедурами афереза (см. схему) проводили последовательные процедуры удаления фактора атерогенности на протяжении 6 месяцев. Через каждые 2 месяца воздействия оценивали состояние больного с использованием общеклинических, инструментальных и биохимических методов. Таким образом, оценка влияния многократных процедур экстракорпоральной перфузии плазмы через колонку с иммобилизованными аутологичными ЛПНП на клиническое течение ИБС у одного больного занимало 14-17 месяцев (2 мес. подготовительного периода и 12- 15 месяцев воздействия).

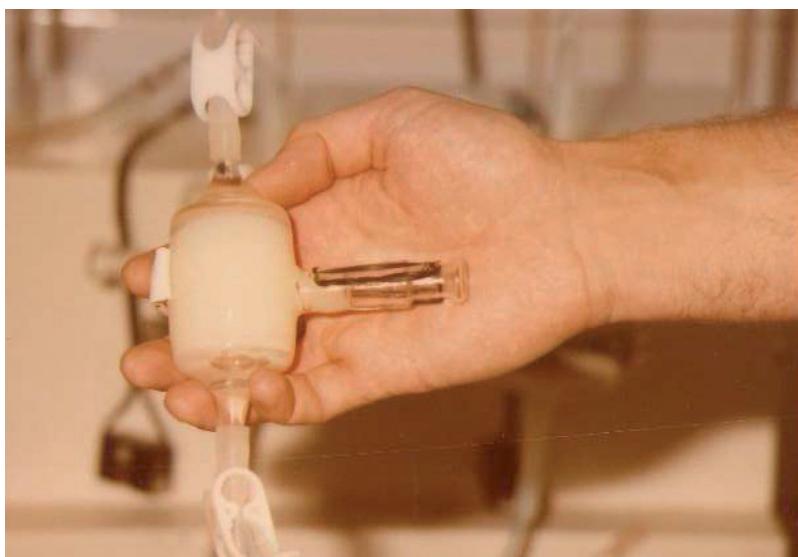


Рисунок 12а. Колонка с аутологичными ЛПНП, иммобилизованными на сефарозе, для выполнения процедур афереза атерогенного фактора

Клиническая оценка состояния больного

Примечание: АФА – аферез ФА; ПО – плазмообмен в объеме 2000 мл. После 1-го ПО из удаленной плазмы выделяют ЛПНП с последующим «пришиванием» их к шарикам сефарозы и приготовлением стерильной колонки; при 2-м ПО колонка покрывается плазмой, проверяется ее эффективность и апирогенность; при 3-и ПО часть плазмы, прошедшей через колонку (50 мл), возвращается больному, если при этом нет отрицательной реакции, то дожидаемся восстановления исходного уровня ФА, после чего можно начинать саму программу удаления ФА и оценку ее влияния на течение стенокардии.

Мониторирование больного в процессе обследования

1. Определение ФА и липидов крови 2 раза в неделю в период подбора интервала между процедурами, далее 1 раз в неделю.
2. Общий анализ крови через каждые 2 недели.
3. Определение органоспецифических активностей ферментов печени - каждые 2 месяца.
4. Оценка состояния больного с помощью инструментальных методов: велоэргометрия, холтеровское мониторирование через каждый месяц.
5. Полное обследование - в начале и в конце курса проведенного лечения.

Об эффективности афереза атерогенного фактора судили по снижению способности плазмы крови больных вызывать накопление липидов в первичной культуре клеток, выделенных из аорты людей. Одновременно у этих же больных изучали содержание общего холестерина и холестерина, входящего в состав липопротеидов различных классов, в динамике проводимого лечения.

2.4 Общая характеристика клеточных моделей и методы их исследования

Как было установлено ранее Ореховым с соавт. (1982-1984), клетки интимы, выделенные из атеросклеротически измененных артерий человека в первичной культуре ин витро сохраняют характеристики, свойственные этим клеткам *in situ*. В работах цитируемых выше авторов было также показано, что клетки, выделенные из атеросклеротических поражений, жировой полосы или атеросклеротической бляшки, в течение первых 7-12 дней культивирования сохраняют основные свойства "атеросклеротических" клеток - повышенную пролиферативную активность, высокое содержание внутриклеточных липидов и высокую скорость синтеза соединительно-тканых компонентов внеклеточного матрикса (Орехов с соавт., 1982-1984). Модель, представляющая собой короткоживущую органную культуру интимы аорты человека и первичную культуру выделенных из нее клеток широко используется, выявлено наличия и степени выраженности атерогенности плазмы крови больных ИБС, а также для оценки эффективности применяемых методов лечения (Orekhov et al., 1983-1986).

2.4.1 Характеристика материала, используемого для получения клеточных и органных культур

Для получения короткоживущей органной культуры интимы и выделения из интимы клеток для культивирования мы использовали верхние отделы грудной аорты, полученные во время "срочных" (через 1-3 часа после смерти) аутопсий у 100 внезапно умерших мужчин и 17 женщин в возрасте 40-60 лет (табл.8).

Для идентификации типа атеросклеротического поражения

используют общепринятую классификацию, согласно которой выделяют 4 типа изменений:

"норма" - гладкая поверхность сосуда;

жировая инфильтрация - гладкая поверхность сосуда с суфилией бледно-розового цвета;

липидная полоса - полосы шириной 2-3 мм и длиной 6-30 мм, слегка приподнятые над поверхностью сосуда;

фиброзная бляшка - сильно приподнятые над поверхностью сосуда образования, обычно округлой формы, бледно-желтого или жемчужного цвета.

В стерильных условиях после механического удаления адвенции сосуды разрезали продольно и изучали тип атеросклеротического поражения.

Таблица 8

Характеристика аутопсийного материала, используемого для получения органных культур и гладкомышечных клеток аорты человека

№п/п	Аутопсийный материал						
	мужчины, возраст (годы)	кол-во	время изъятия материала	женщины, возраст	кол-во	время изъятия материала	Всего
1.	44,2±0,6	49	2,4±0,1	46,7±1,3	7	2,4±0,3	56
2.	41,1±0,5	10	2,1±0,1	40,2±0,3	5	2,2±0,2	15
3.	57,3±2,3	12	2,5±0,1	—	—	—	12
4.	55,7±3,2	7	2,2±0,2	—	—	—	7
	57,3±2,5	3	2,3±0,2	—	—	—	3
	56,8±2,1	2	2,1±0,1	55	1	2,0	3
	52,0±4,2	3	2,8±0,4	—	—	—	3
	58,1±3,3	14	2,7±0,1	58,3±5,6	4	2,3±0,1	18
	100			17			117

Для получения органных культур и для выделения первичных культур гладкомышечных клеток использовали неизмененные участки сосудов и фиброзные бляшки (см.табл.8). Механически (щипцами) отделяли интиму от медии. Аккуратность отделения внутренней от средней оболочки сосудов контролировали макроскопически и (на ранних этапах) с помощью светового микроскопа. Микроскопический контроль показал, что отделение интимы от медии идет по внутренней эластической мембране (Орехов с соавт., 1982).

2.4.2 Методы получения органной короткоживущей культуры интимы аорты человека

Кусочки интимы аорты диаметром 0,25 см² культивировали в стерильной пластиковой посуде ("Coming" , США, "Falcon", США) при 37° С в атмосфере 95% воздуха и 5% CO₂, насыщенной водой. Культуральная жидкость содержала среду 199, 2мМ глутамина, 100ЕД/мл пенициллина, 100мкг/мл стрептомицина, 2,5мкг/мл фунгизона и 10% эмбриональной телячьей делипидированной сыворотки (все реактивы фирмы "Gibco", Англия).

2.4.3 Методы культивирования субэндотелиальных клеток нормальной и атеросклеротически измененной интимы аорты человека

Выделение клеток производили по методу, предложенному Ореховым с соавт. (1982). Интиму обрабатывали смесью 0,15% коллагеназы типа II (Worthington) и 0,01% эластазы типа III (Sigma). Все ферменты растворяли в безкальциевом изотоническом буфере (GIBCO), содержащем 10% фетальной телячьей сыворотки (GIBCO), 0,1% глюкозы, 25мМ HEPES pH 7,4, а также 100ед/мл пенициллина, 100мкг/мл стрептомицина и 2,5мкг/мл фунгизона. Раствор добавляли

в количестве 10 мл на 1 г сырой массы ткани, инкубацию проводили при 37°C со встряхиванием (50 об/мин) до полного переваривания ткани, что занимало 5-6ч. С помощью этого метода можно получить 1-3*10⁶ клеток из 1г интимы (Орехов с соавт.,1982).

Культивирование гладкомышечных клеток интимы производили по методу, описанному Ореховым с соавт. (1982). Ферментативно выделенные клетки суспензировали в среде 199, содержащей 10% телячьью сыворотку, 2 mM L-глутамина и антибиотики, затем помещали в мультивел, содержащий 24 лунки с плотностью посадки 2-4*10⁴ клеток/1 см² площади. Клетки культивировали при 37°C с атмосферным давлением 95% (5% CO₂ во влажном CO₂ инкубаторе). Среду меняли через день.

Органную культуру и первичную культуру клеток, выделенных из интимы аорты, использовали для изучения атерогенности плазмы крови больных ИБС, для оценки эффективности ЛПНП - иммунофереза и процедуры, удаляющей фактор атерогенности из плазмы крови больных ИБС. Культуру интимальных клеток использовали также для изучения антиатерогенного действия ряда фармакологических препаратов.

Для оценки динамики нарастания или угнетения атеросклеротических изменений в первичных и клеточных культурах интимы аорты человека производили изучение пролиферативной активности и исследование динамики изменения концентрации липидов в культурах.

2.4.4 Оценка пролиферативной активности субэндотелиальных клеток интимы

Для определения включения тимицина к 1 мл суспензии клеток добавляли 2мл охлажденного раствора 15% трихлорацетатной кислоты. Осадок дважды промывали в 2мл 10% трихлорацетатной

кислоты и растворяли в 200 мл 0,5N NaOH. Раствор нейтрализовали 0,5мкл NaCl и радиоактивность определяли на радиометре Rackbeta II (LKB wallac) сцинциляционном жидкостном счетчике при помощи сцинциляционной смеси Брея.

2.4.5 Изучение содержания внутриклеточных липидов

Липиды выделяли из суспензированных клеток по методу Bling и Dyer. 2 мл раствора хлороформ/метанола (1:2) добавляли к 0,5мл суспензии клеток ($2-5 \cdot 10^5$ клеток). Выделение липидов производилось при 20°C в течение 2 часов. Для определения восстановления добавляли 10000срм (^{14}C) холестерина. После центрифугирования (300g, 10мин) суспензию помещали в другую пробирку и осадок промывали в 1мл смеси хлороформ/метанола. К смешанной над осадком жидкости добавляли 1мл хлороформа и 1мл воды и центрифугировали при 300g в течение 5мин. Верхняя фаза вода/метанол убирали, а нижнюю фазу дважды промывали в 3мл воды, выпаривали и растворяли в 25-50мл хлороформа.

Фосфолипиды определяли по липидному фосфору по калориметрическому методу (Vaskovsky et al., 1975).

Триглицериды, холестерин и эфиры холестерина отделяли на ТСХ силикогеле 60 в растворителе: тексан/эфир - уксусная кислота (75:23:2). Количество липидов определяли с помощью сканирующей денситометрии, методом абсорбции при 196нм в PQM-3 денситометре (Carl Zeiss Oberkochen, ФРГ). Площадь пика на денситограмме, который соответствовал липиду определенного класса (триглицерид, холестерин и эфиры холестерина) определяли с помощью МОР-3 полуавтоматического анализатора (C.Reichert Optische Werke AG, Вена, Австрия). Каждое определение сопровождалось калибровкой со стандартами: холестеринолеат, триолеин, холестерин и диолеилфосфатидилхолин. Экстракт липидов

анализируемого образца помещали на пластинку в таком объеме, что определяемое количество липидов было в линейной части колибровочной кривой. Определение липидов в каждом образце проводило с тройными повторами.

Выделение липопротеидов различных классов методом последовательного препаративного ультрацентрифугирования. Кровь забирали у доноров утром натощак в пластиковые пробирки без антикоагулянта. Собранныю кровь инкубировали 1 час при 37°C и затем центрифугировали 30мин при 3000об/мин. ЛПОНП были изолированы согласно Lindgren (1975) ультрацентрифугированием в роторе Beckman 60 Ti (Beckman SW-60, Beckman Instruments, Inc., Pola Alto, CA) в растворе NaCl с плотностью 1.006 (40000об/мин, 20час при 13°C). Флотирующие ЛПОНП отсасывали; оставшуюся плазму доводили до плотности 1,063г/мл добавлением соли NaBr и насыщали раствор NaCl+NaBr с той же плотностью. Центрифугирование осуществляли в том же режиме. После отделения ЛПНП инфранатант доводили до плотности 1,21г/мл добавлением KBr и ЛПВП выделяли центрифугированием в течение 24 часов при 4°C (ротор 60Ti, 40000об/мин). Все препараты липопротеидов подвергали дополнительному рецентрифугированию и диализовали против изотонического фосфатного буфера. Содержание белка в полученных фракциях липопротеидов определяли по Lowry (1951).

Глава 3. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Резкое повышение уровня ЛПНП в плазме крови больных семейной ГХС обусловлено отсутствием или нарушением функционирования ЛПНП-рецепторов, вследствие чего все клетки организма теряют способность к поглощению и интернализации ЛПНП. Показано, что в основе резкого возрастания уровня ЛПНП в крови, имеющего место у больных семейной ГХС, могут лежать, по крайней мере, 3 типа аномалий ЛПНП-рецепторного аппарата: 1) рецептор-негативные пациенты, у которых выявляется менее 2% (по сравнению с клетками здоровых лиц) активных ЛПНП-рецепторов; 2) рецептор-дефектные пациенты, клетки которых характеризуются резким уменьшением (до 20-30% в сравнении с нормой) числа рецепторов и 3) пациенты, в клеточной мембране которых содержится нормальное количество, но не функционирующих ЛПНП-рецепторов (Goldstein, Brown, 1984).

По современным представлениям, определение уровня суммарного холестерина, а также холестерина, входящего в состав ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП не позволяет получить критериев, достаточных для формулировки окончательного диагноза - "семейная ГХС" (Goldstein, Brown, 1977-1984; Kane, Mahley 1982; Forman et al., 1982; Климов, 1982-1985; Лопухин, Маркин, 1983). В связи с этим считают общепризнанным, что особую значимость в диагностике семейной ГХС Ia типа и разработки показаний к применению у этих больных экстракорпоральных методов имеет изучение ЛПНП-рецепторики с использованием фибробластов, выделенных из кожи и/или лимфоцитов, выделенных из крови (Goldstein, Brown, 1977-1984).

Была изучена ЛПНП-рецепторная активность фибробластов,

выделенных из кожи предплечья 10 больных, у которых был резко повышен уровень содержания суммарного холестерина в крови.

Для оценки ЛПНП-рецепторной активности фибробластов использовали иммуноферментный метод. Чтобы проверить возможность использования иммуноферментного метода (ИФМ) для диагностики различных форм семейной ГХС, было проведено сравнение взаимодействия ЛПНП с фибробластами здорового донора и двумя типами мутантных фибробластов, взятых от больного с гомозиготной рецептор-негативной формой семейной гиперхолестеринемии (GM2000) пациента, имевшего нарушенную internalизацию липопротеинов при незначительно сниженном числе рецепторов на поверхности клеток (GM2408A), были получены ИЗ Human Genetic Mutant Cell Repository (Camden N.J.).

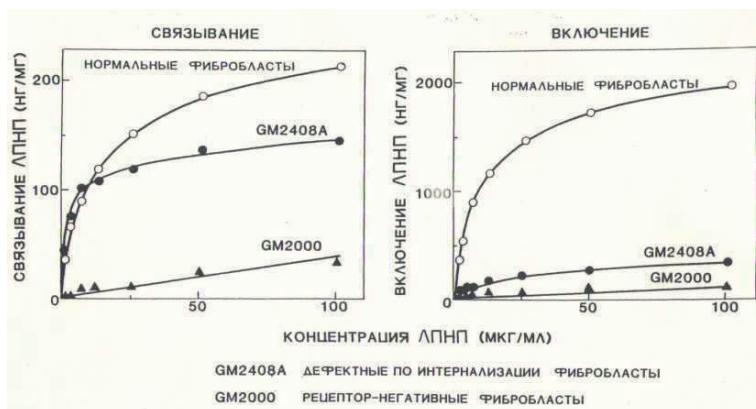


Рисунок 13. Динамика связывания (А) и включения (Б) липопротеидов низкой плотности фибробластами кожи здорового человека (0), фибробластов линии GM-2408A (дефектных по internalизации ЛПНП) и линии GM-2000 (дефектных по связыванию ЛПНП).

На рисунке 13 представлены данные этого сравнения. Можно видеть, что на фибробластах GM2000 (кривые 1) связывание и

включение ЛПНП было значительно ниже, чем на клетках здорового донора, (кривые 3), тогда как у клеток линии GM2408A (кривые 2) наблюдаются преимущественное нарушение интернализации ЛПНП (рис. 13). При определении иммуноферментным методом связывание и интернализация ЛПНП клетками линии GM2000 составили 5,0% и 4,6% от данных для нормальных фибробластов, а для линии клеток GM2408A 68,1% и 15,7% соответственно. Такие данные хорошо согласуются с результатами, полученными другими авторами с помощью радионуклидного метода оценки связывания и интернализации ЛПНП клетками.

Таблица 9

Сравнение иммуноферментного и радионуклидного методов оценки активности катаболизма ЛПНП фибробластами, выделенными из кожи здорового человека (норма) и 3-х больных с семейной гиперхолестеринемией

Донор	Связывание ЛПНП (% от контроля)		Включение ЛПНП (% от контроля)	
	ИФМ	RHM	ИФМ	RHM
Норма	100	100	100	100
Больные				
1	70,5	80,3	63,4	65,0
2	49,2	46,7	38,2	37,1
3	49,1	48,2	28,0	30,6

Примечания:

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

ИФМ - по данным иммуноферментного метода

RHM - по данным радионуклеотидного метода

Способы оценки связывания и включения ЛПНП фибробластами с помощью иммуноферментного и радионуклеотидного методов подробно описаны в главе II.

Норма - показатели связывания и включения ЛПНП фибробластами здорового человека

Больные - показатели связывания и включения ЛПНП фибробластами пациентов с семейной гиперхолестеринемией.

Данные представлены в виде процентного отношения к соответствующим показателям здорового человека

В табл. 9 приведены результаты оценки катаболизма ЛПНП клетками здорового донора и 3 пациентов с семейной ГХС

иммуноферментным и радионуклидным методами. Хорошее совпадение данных, получаемых двумя методами, позволило в дальнейшем проводить анализ рецепторной активности на фибробластах больных только иммуноферментным методом.

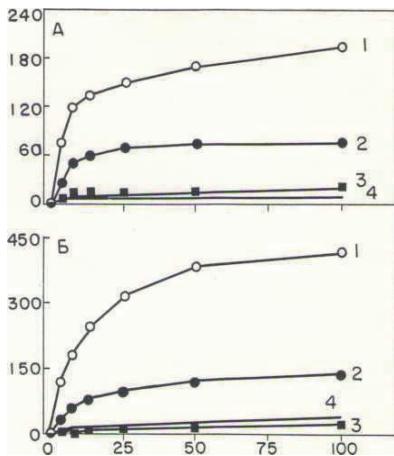


Рисунок 14. Связывание (А) и включение (Б) нативных ЛПНП и МДА-ЛПНП фибробластами здорового донора и пациента.

По оси абсцисс - концентрация ЛПНП в среде инкубации (в $\mu\text{г}/\text{мл}$); по оси ординат - количество-связанных или включенных клетками ЛПНП (в относительных единицах).

- 1 - фибробlastы здорового донора, ЛПНП;
- 2 - фибробlastы пациента,-ЛПНП;
- 3 - фибробlastы здорового донора, МДА-ЛПНП;
- 4 - фибробlastы пациента, МДА-ЛПНП.

На рис. 14 показаны кривые связывания ЛПНП нормальными клетками и фибробластами одного из пациентов с семейной ГХС. Модифицированные малоновым диальдегидом ЛПНП (МДА-ЛПНП), которые не способны взаимодействовать с рецепторами для нативных липопротеидов низкой плотности, были использованы для

оценки неспецифического связывания. Уровень рецептор-опосредованного связывания и включения оценивали путем вычитания из общего связывания и включения ЛПНП данных, полученных с МДА-ЛПНП. У данного больного связывание было снижено на 45%, а интернализация на 39%, т.е. можно говорить о гетерозиготной форме семейной ГХС с уменьшением числа рецепторов при нормальной скорости включения липопротеидов низкой плотности внутрь клеток.

В таблице 10 представлены данные о липидном профиле сыворотки и рецептор-опосредованном взаимодействии ЛПНП с фибробластами больных с предварительно установленным диагнозом: семейная гиперхолестеринемия. Показатели содержания ХС-ЛПНП давали основание подозревать у них наследственный характер гиперхолестеринемии. В то же время изучение рецептор-опосредованного связывания и включения ЛПНП фибробластами, выделенными из кожи этих больных, не позволило во всех случаях подтвердить диагноз семейной ГХС.

Данные, представленные в табл.10, свидетельствуют о том, что изучение уровня холестерина, триглицеридов и ХС-ЛПНП не всегда позволяет с достаточной степенью уверенности говорить о диагнозе семейной ГХС. У пациентов 3, 4, 6 и 10, у которых, как показал дальнейший анализ, имела место семейная ГХС, содержание ХС и ХС-ЛПНП было таким же высоким, как и у больных ИБС,. у которых диагноз семейной ГХС в дальнейшем не подтвердился.

Результаты изучения активности ЛПНП-рецепторов в фибробластах позволили установить, что у четырех больных (№№ 3, 4, 6, 10), рецептор-зависимые связывание и интернализация ЛПНП были снижены по сравнению с контролем в 2-3 раза, что свидетельствует о наличии у них гетерозиготной формы семейной ГХС. У одного пациента (№ 8) число рецепторов составляло 82% от

нормы и для постановки окончательного диагноза необходимо более детальное обследование его ближайших родственников. У остальных пяти больных (№1, 2, 5, 7 и 9) показатели связывания и интернализации ЛПНП не отличались от аналогичных величин у здоровых лиц. Это явилось основанием для исключения диагноза "семейная ГХС" у этих больных ИБС.

Таблица 10

Липидный профиль плазмы крови и рецептор-опосредованное взаимодействие ЛПНП фибробластами кожи больных с подозрением на семейную ГХС

Пациент	ХС (мг%)	ХС-ЛПНП (мг%)	ТГ(мг%)	Связывание ЛПНП (% от контроля)	Включение ЛПНП (% от контроля)	Окончательный диагноз
1	450	391	95	123,4	110,2	ИБС
2	580	525	103	140,0	115,1	ИБС
3	668	587	199	41,1	48,3	с ГХС
4	604	595	100	27,6	28,2	с ГХС
5	348	268	196	92,0	103,7	ИБС
6	391	324	170	48,5	49,9	с ГХС
7	354	326	223	105,4	112,1	ИБС
8	486	417	174	82,4	86,6	с ГХС
9	486	385	86	98,3	98,7	ИБС
10	478	404	286	55,6	61,3	с ГХС

Обозначения: ХС - содержание суммарного холестерина в плазме; ТГ – содержание триглицеридов в плазме; ХС-ЛПНП - содержание ХС, входящего в состав ЛПНП; с ГХС - семейная гиперхолестеринемия; ИБС - ишемическая болезнь сердца, не связанная с наследственными аномалиями рецепторного механизма взаимодействия ЛПНП с клетками.

Полученные нами данные позволяют прийти к заключению о том, что диагноз семейной ГХС (и, соответственно, применение экстракорпоральных методов) может быть поставлен лишь в том случае, когда у больного, наряду с резким возрастанием уровня циркулирующих ЛПНП, имеют место уменьшение числа и/или нарушения функции ЛПНП-рецепторов. Такие данные в целом согласуются с литературными сведениями (Goldstein, Brown, 1977-1984; Kahne a.Mahley, 1982; Лопухин, Маркин, 1983).

Следует, однако, отметить, что заключения о дефиците и нарушении функции ЛПНП-рецепторов были сделаны в исследованиях, посвященных изучению патогенеза семейной ГХС. В то же время в большинстве доступным нам работ, посвященных клиническим аспектам применения экстракорпоральных методов у больных семейной ГХС, этому вопросу уделяли недостаточное внимание. Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о необходимости изучения связывания и интернализации ЛПНП для получения дополнительных критерииев, указывающих на необходимость выполнения больным экстракорпоральных процедур.

Полученные результаты говорят о том, что разработанные модификации иммуноферментного метода могут быть использованы для выявления больных с наследственным нарушением функции ЛПНП-рецепторов. Это позволяет не только уточнять диагноз семейной ГХС, но и получать дополнительные критерии для разработки показаний к применению методов экстракорпорального удаления ЛПНП. В тех случаях, когда с помощью этого метода удается установить уменьшение числа и/или нарушение процесса интернализации ЛПНП-рецепторов, можно с достаточными основаниями говорить о необходимости применения плазмообмена, аффинной хроматографии или ЛПНП-иммунофереза в комплексном

лечении больных.

Таким образом, представленные выше данные свидетельствуют о том, что клинические признаки (стенокардия, ксантомы) и данные инструментальных методов (ЭКГ, ФКГ, Коронарограмма) не могут служить надежными критериями ни для диагностики семейной ГХС, ни для разработки показаний к проведению плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза. Информацию, необходимую для распознавания семейной ГХС Па типа и для выработки показаний к проведению процедур, направленных на удаление ЛПНП из циркуляции, можно получить лишь при изучении липидного и липопротеидного состава крови у больных с семейной ГХС, а также исследования количества и функциональных свойств ЛПНП-рецепторов на фибробластах.

Глава 4. ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЛАЗМООБМЕНА У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

В предыдущей главе были представлены данные, свидетельствующие об информативности показателей, отражающих липидный состав плазмы крови и уровень холестерина, входящего в состав ЛПНП и ЛПВП как критериев при выборе показаний к лечению больных семейной ГХС. Эти же показатели, как свидетельствуют данные литературы, целесообразно использовать и при оценке непосредственных, ближайших и отдаленных результатов применения плазмообмена.

Кроме того, в оценке отдаленных результатов этой процедуры были использованы и методы клинико-инструментального обследования больных для того, чтобы установить, как отражается длительное применение многократных процедур плазмообмена на течение заболевания. Одновременно с целью изучения побочных эффектов этого метода экстракорпоральной терапии исследовали влияние плазмообмена на функциональное состояние тромбоцитов и показатели, отражающие уровень различных гормонов в плазме крови. Была также изучена динамика изменений в содержании ряда белков, отражающих функциональное состояние ретикулоэндотелиальной (фибронектин), свертывающей (фибриноген) и иммунной (IgA , M и G) систем.

Изучение лечебного действия плазмообмена было произведено на основании данных, полученных в ходе его применения у 9 больных семейной ГХС, в том числе у 4-х в течение 4-12 месяцев с частотой процедур, выполняемых один раз в 7-10 дней на протяжении всего лечения.

В табл. 11 представлены данные о клинической характеристике больных, подвергнутых процедурам плазмафереза.

Всем больным на клеточном сепараторе крови - 2997 фирмы IBM.

(США) осуществлены процедуры плазмофереза с интервалом от 7 до 14 дней по методу, подробно описанному в гл.П.

4.1 Влияние однократных процедур плазмообмена на показатели липидного и липопротеидного состава плазмы крови больных семейной гиперхолестеринемией

В табл.12 отражены данные по изучению содержания уровня холестерина в крови у 9-ти больных семейной ГХС и после первых четырех процедур плазмообмена. Можно видеть, что сразу же после проведения процедуры плазмообмена уровень содержания суммарного холестерина в плазме всех больных с семейной ГХС резко снижался (в среднем, на 26-57% от исходной величины).

Эффекты проведения однократной процедуры плазмообмена на уровень содержания холестерина в плазме крови больных семейной ГХС отчетливо иллюстрируются графиком (рис. 15), на котором отражена динамика изменений этого показателя в первые дни после применения этого метода экстракорпоральной терапии у больной Бой, 29 лет, с гетерозиготной формой семейной ГХС.

Таблица 11

Клиническая характеристика больных семейной ГХС (до начала курса процедуры плазмообмена)

	Ф-н	К-а	Б-а	П-в	А-а	С-н	Ж-в	Б-в	Ф-н
Пол	м	ж	ж	м	ж	м	м	м	м
Возраст	46	39	29	42	54	41	33	43	44
Стенокардия (функциональный класс)	III	III	III-IV	III	III	II	II	III	III
Ксантомы	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Данные ВЭМ пробы	полож.	полож.	полож.	полож.	полож.	полож.	полож.	полож.	полож.
Тolerантность (кгм/мин)	низкая	низкая	низкая	низкая	низкая	средняя	средняя	средняя	низкая
объем выполняемой работы (кгм/мин)	2250	300	600	1200	1650	4500	4500	4350	1650
Стеноз коронарных артерий (%)									
левая нисходящая	65		диф. изм		80	70	82-90	65	65
правая	0	75	—		75	75	0	85	0
огибающая	0	60	—		0	50	0	50	0

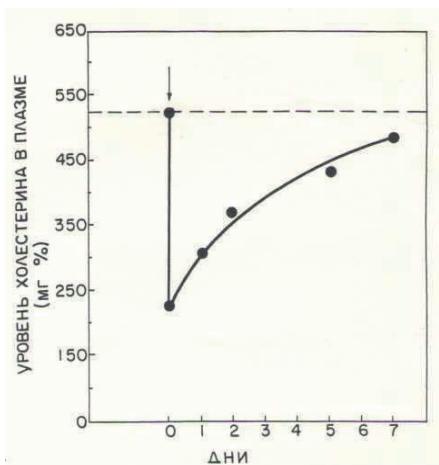


Рисунок 15. Непосредственный эффект однократной процедуры плазмообмена на содержание суммарного холестерина в плазме крови больного Б-а, 29 лет, и.б. № 852.

Диагноз: семейная гиперхолестеринемия ПА-типа, гетерозиготная форма.

Стрелкой обозначен день проведения процедуры плазмообмена.

Как видно из представленных на рисунке данных, уровень содержания холестерина в плазме крови этого больного до проведения плазмообмена, равный 528 мг%, сразу же после процедуры снизился до 226 мг%. При этом степень снижения уровня холестерина на 1-й день после процедуры была равной 57,1%-в сравнении с исходной (до плазмообмена) величиной.

Данные, представленные в табл.12 и на рис. 15, свидетельствуют также о том, что в течение первых 7-10 дней после плазмофереза уровень содержания холестерина в плазме крови постепенно повышается и через 7 дней возвращается к исходным величинам.

Таблица 12

Влияние первых четырех процедур плазмообмена на содержание холестерина в плазме крови больных семейной ГХС

№ п п	Содержание холестерина (мг%)												
	Исходный период		Процедуры плазмообмена										
			I		II		% а б	III		% а б	IV		% а б
1.	668	528	226	-57	509	217	-57	348	146	-58	409	193	-52
2.	469	469	240	-49	280	180	-36	360	153	-57	388	167	-56
3.	509	509	377	-26	401	258	-38	390	225	-42	287	162	-43
4.	486	486	259	-47	306	226	-26	292	237	-19	304	160	-47
5.	543	543	268	-51	363	194	-47	345	162	-53	302	145	-52
6.	478	478	248	-48	273	159	-42	213	119	-44	228	147	-36
7.	580	454	204	-55	320	152	-52	318	145	-54	326	124	-62
8.	410	261	189	-26	277	180	-35	243	154	-37	232	154	-34
9.	391	298	170	-43	362	163	-55	277	204	-27	272	173	-36

Примечание: "исходный период" - содержание ХС до начала лечения

а - содержание ХС до каждой процедуры

б - содержание ХС после каждой процедуры

$$\% = \frac{a - b}{b} \times 100\%$$

Представляло интерес установить, за счет чего происходит снижение уровня суммарного холестерина в крови больных семейной ГХС под влиянием процедуры плазмообмена. Как известно, содержание суммарного холестерина в плазме крови является интегральным показателем, отражающим уровень холестерина, входящего в состав как атерогенных (ЛПНП и ЛПОНП), так и антиатерогенных (ЛПВП) липопротеидов (Климов, 1977-1984; Перова. 1982; Герасимова, 1980; Friedrickson, Levy, 1972). При этом о наличии и степени выраженности изменений содержания ЛПНП и ЛПОНП можно судить, измеряя концентрацию апопротеина В в плазме крови, а показателем, отражающим уровень ЛПВП в крови, является измерение содержания холестерина, входящего в состав этих липидно-белковых частиц (ХС-ЛПВП).

Совместно Перовой мы произвели изучение содержания апо-В в крови больных семейной ГХС до и непосредственно сразу же после проведения 4 процедур плазмообмена. В табл.13 и на рис. 16 отражены данные после этого исследования.

Как видно из данных, представленных в табл.13, сразу после каждой процедуры плазмообмена происходит снижение содержания апо-В (на 26-55% в сравнении с исходной величиной).

Результаты этой серии исследований свидетельствуют о том, что наблюдаемое после процедуры плазмообмена снижение содержания уровня суммарного холестерина обусловлено, по крайней мере, отчасти удалением из крови атерогенных классов липопротеидов (ЛПНП и ЛПОНП).

Таблица 13

Влияние первых 4-х процедур плазмообмена на содержание апо-В в плазме крови больных семейной ГХС

№ пп	Содержание апо-В в плазме (мг%)														
	Процедуры плазмообмена														
	Исходный период			I			II			III			IV		
	a	b	%	a	b	%	a	b	%	a	b	%	a	b	%
1.	310	298	220	-26	225	135	-40	220	134	-39	225	130	-42		
2.	280	224	140	-37	246	157	-36	236	120	-49	238	118	-50		
3.	300	300	200	-33	250	150	-40	178	140	-21	173	110	-36		
4.	320	301	215	-28	278	211	-24	270	212	-21	258	215	-17		
5.	438	443	201	-55	319	156	-51	238	116	-51	212	130	-51		

Примечание: Обозначения те же, что и в табл.12

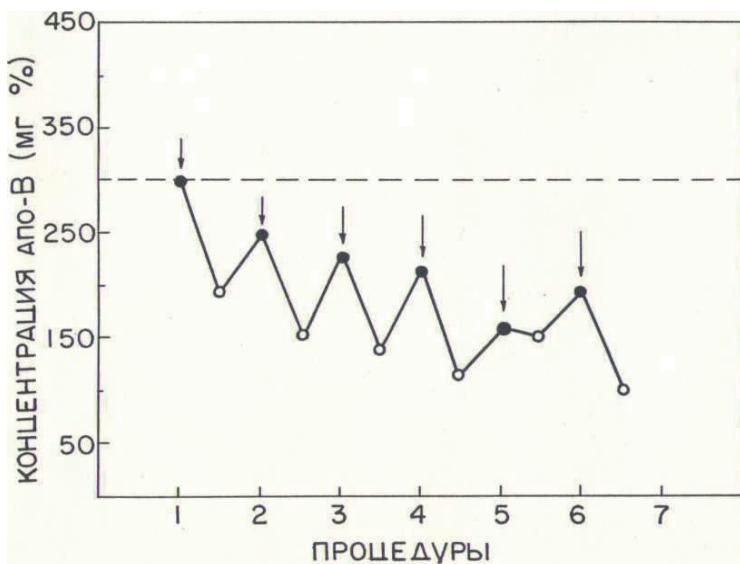


Рисунок 16. Влияние процедуры плазмообмена на содержание апопротеина В в плазме крови больного Ф., 46 лет.

Диагноз: семейная гиперхолестеринемия ПА типа, гетерозиготная форма.

Таблица 14

Влияние первых четырех процедур плазмообмена на содержание XC-ЛПНП в плазме крови у больных семейной ГХС

№ пп	Содержание XC-ЛПНП (мг%)												
	Исх одн ый пер иод	Процедуры плазмообмена											
		I		%		II		%		III		%	
		a	б	a	б	a	б	a	б	a	б	a	б
1.	525	453	180	-59	440	180	-59	240	102	-57	341	150	-56
2.	410	409	209	-49	290	130	-55	330	140	-57	210	99	-53
3.	443	443	287	-35	338	222	-34	270	175	-35	191	107	-56
4.	385	379	200	-47	220	150	-32	210	160	-24	369	105	-52
5.	485	485	241	-50	316	125	-60	289	137	-52	214	105	-51
6.	404	200	129	-35	167	92	-45	175	123	-29	193	127	-34
7.	525	369	173	-53	256	120	-53	251	105	-58	240	121	-50
8.	340	187	142	-24	198	145	-27	167	111	-33	150	110	-27
9.	324	239	132	-45	301	121	59	220	165	-25	220	138	-37

Обозначения те же, что и в табл. 12, 13.

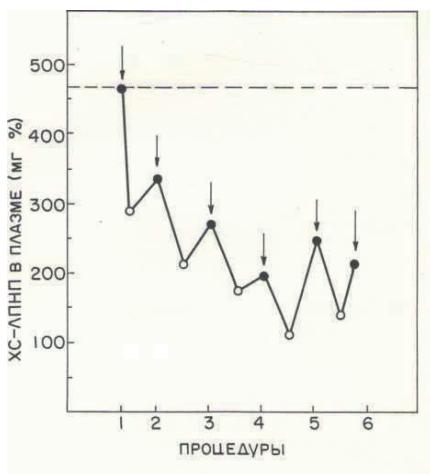


Рисунок 17. Влияние процедур плазмообмена на уровень содержания ХС-ЛПНП в плазме крови больного Ф., 46 лет с диагнозом "семейная ГХС"

Об этом свидетельствуют также результаты изучения уровня холестерина, входящего в состав ЛПНП, до и непосредственно сразу же после проведения процедуры плазмообмена (табл.14, рис. 17)

Можно видеть, что уменьшение содержания ХС-ЛПНП, наблюдаемое уже после первой процедуры плазмообмена, становится особенно отчетливо выраженным после 2-3-й процедуры. В результате в течение первого месяца после применения процедур плазмообмена уровень ХС-ЛПНП уменьшается в среднем на 35-50%. Эти данные согласуются с выводами, полученными на основании изучения содержания апо-B в плазме крови больных семейной ГХС до и непосредственно сразу же после выполнения процедуры плазмообмена (см.табл. 13 и рис. 16).

Они свидетельствуют об удалении из крови атерогенных классов липопротеидов под влиянием однократной процедуры плазмообмена и последующим их восстановлением в первые дни

после процедуры.

Однако плазмообмен не является процедурой, позволяющей селективно извлекать из крови липопротеиды только атерогенных классов. Об этом, в частности, свидетельствуют данные таблицы 15, в которой отражены результаты изучения содержания холестерина, входящего в состав ЛПВП (ХС-ЛПВП) до и после проведения первых четырех процедур плазмообмена. Можно видеть, что сразу же после применения этого лечебного мероприятия, содержание ХС-ЛПВП снижается на 33-59% в сравнении с исходной (до проведения плазмообмена) величиной. В последующие дни после каждой процедуры отмечается восстановление уровня ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией (рис. 18).

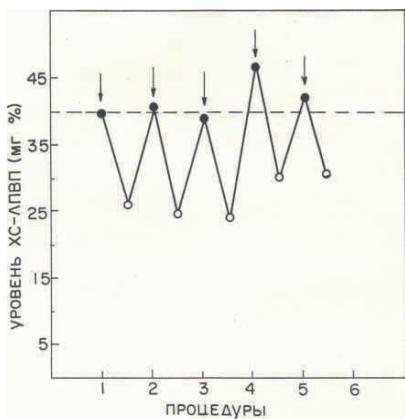


Рисунок 18. Снижение и восстановление уровня ХС-ЛПВП плазме крови больного Ф., 46 лет с диагнозом: семейная гиперхолестеринемия, после процедур плазмообмена.

Стрелкой указано начало каждой последующей процедуры.

Таким образом, однократная процедура плазмообмена приводит к резкому снижению уровня содержания суммарного холестерина в плазме крови больных семейной

гиперхолестеринемией. Это обусловлено удалением из плазмы крови этих больных как атерогенных (ЛПНП и ЛПОНП), так и антиатерогенных (ЛПВП) классов липопротеидов. Такие данные свидетельствуют о том, что с помощью однократной процедуры плазмообмена не удается избирательно удалять только атерогенные классы липопротеидов.

Таблица 15

Влияние первых четырех процедур плазмообмена на содержание ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной ГХС

№ пп	Содержание ХС-ЛПШ (мг%)												
	Исхо- довый пери- од	Процедуры плазмообмена											
		I		%	II		%	III		%	IV		%
		a	b		a	b		a	b		a	b	
1.	41	24	16	-33	23	16	-34	23	15	-35	24	16	-
2.	35	37	23	-38	16	23	44	20	15	-25	19	14	-
3.	40	40	26	-35	41	24	-41	39	24	-38	47	30	-
4.	20	21	14	-33	20	14	-30	20	16	-20	20	15	-
5.	33	34	14	-59	31	28	-10	32	14	-56	28	13	-
6.	58	39	26	-33	31	22	-29	28	20	-29	41	24	-
7.	33	44	22	-50	36	20	-44	41	27	-34	43	27	-
8.	31	40	25	-38	27	19	-30	28	14	-50	30	25	-
9.	38	36	24	-33	34	27	-	30	25	-17	29	24	-

Обозначения те же, что и в табл. 13 и 14

Полученные нами данные о непосредственных эффектах однократной процедуры плазмафереза на показатели уровня содержания холестерина апо-В, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП совпадают с результатами многих других авторов (Thompson et al., 1979-1981; Berger, 1978; Etta et al., 1980).

Нами было показано, что процедура плазмообмена существенно отражается на липидном и липопротеидном составе крови. Однако непосредственный эффект плазмообмена на уровень ХС, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП у больных ГХС довольно кратковременный и не селективный. Для поддержания уровня холестерина на низком уровне необходимо постоянно повторять процедуры плазмообмена.

4.2 Влияние многократных процедур плазмообмена на липидный состав и содержание липопротеидов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией

Для оценки ближайших результатов применения плазмообмена у больных с семейной ГХС были изучены показатели содержания суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП у 4-х больных через 2 месяца после проведенного курса лечения. Всего каждому больному за этот период было выполнено 7-8 процедур плазмофереза. Данные, отражающие уровень содержания суммарного холестерина ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в крови больных семейной ГХС до начала проведенного курса процедур плазмообмена и через 2 месяца, в течение которых процедуры проводились, отражены в табл.16.

Как видно из таблицы, многократное применение процедур плазмообмена в течение 2-х месяцев привело к значительному снижению содержания суммарного холестерина у всех больных семейной ГХС (на 14,9-37,4% в сравнении с исходной величиной).

Такое заключение иллюстрируется данными, представленными на рис. 18, на котором отражены результаты сравнения показателей липидного состава плазмы крови больных, страдающих семейной ГХС, изученные до и через 2 месяца после курса лечебных процедур плазмообмена.

Через 2 месяца после прохождения курса процедур плазмообмена у больных семейной ГХС отмечалось также достаточно выраженное снижение содержания ХС-ЛПНП (от 14,3 до 52,7% в зависимости от индивидуальных особенностей больных). Такие данные свидетельствуют о том, что используемый метод экстракорпоральной терапии позволяет добиться определенного эффекта уже после применения 7-9 процедур.

Особое внимание привлекают данные по изучению содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной ГХС. Как свидетельствуют данные, представленные в табл.16 и на рис. 19, через 2 месяца после применения процедур плазмообмена уровень ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной ГХС либо возрастает (больной Ф-н), либо, по крайней мере, не снижается. Такие данные кажутся неожиданными в связи с тем, что непосредственно после каждой процедуры плазмообмена уровень ХС-ЛПВП резко падает (см.табл.15 предыдущего раздела).

Независимо от механизма, лежащего в основе отсутствия изменений в содержании или даже в повышении уровня ХС-ЛПВП у больных семейной ГХС, подверженных 2-х месячному курсу плазмообмена, полученные нами данные представляют определенный интерес. Они свидетельствуют о том, что в ближайшие сроки (через 2 месяца) после плазмообмена происходит не только некоторое снижение содержания в крови больных семейной ГХС атерогенных классов липопротеидов, но и наблюдается тенденция к возрастанию уровня антиатерогенных их

классов.

Таблица 16

Влияние многократных (в течение 2 мес.) процедур плазмообмена на уровень содержания общего холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией

№ пп	Показатели					
	Холестерин		ХС-ЛПНП		ХС-ЛПВП	
	ДО	через 2 мес	до	через 2 мес	до	через 2 мес
1.	528	449	453	389	24	26
2.	486	304	379	179	21	23
3.	509	353	443	282	40	47
4.	460	388	409	330	35	36

Обозначения: "до" - исследуемые показатели до назначения процедур плазмообмена

"через 2 месяца" - показатели через 2 месяца после проведения курса процедур (перед последующей процедурой)

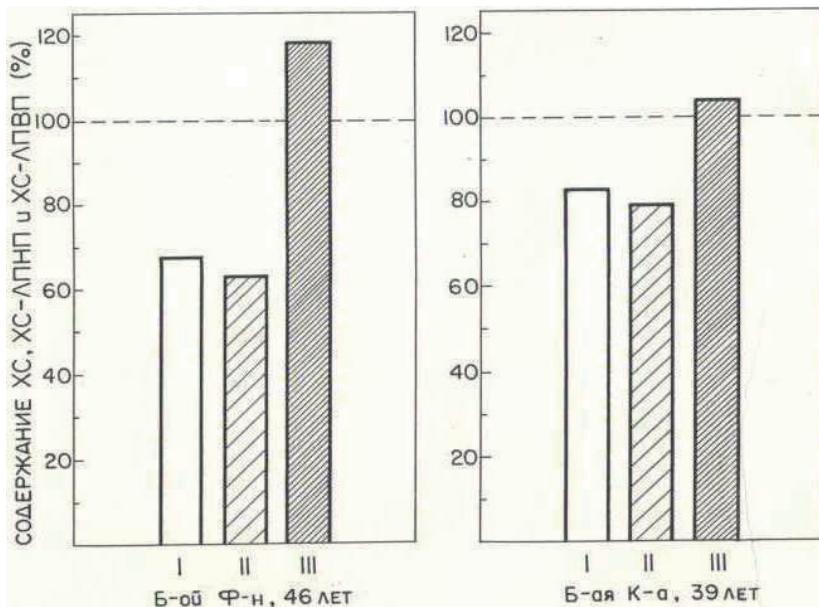


Рисунок 19. Ближайшие результаты плазмообмена у больных семейной ГХС. Данные представлены в виде процентного отношения изучаемых показателей через 2 месяца от начала лечения.

100% - исходные данные. I - XС; II - XС-ЛПНП; III - XС-ЛПВП.

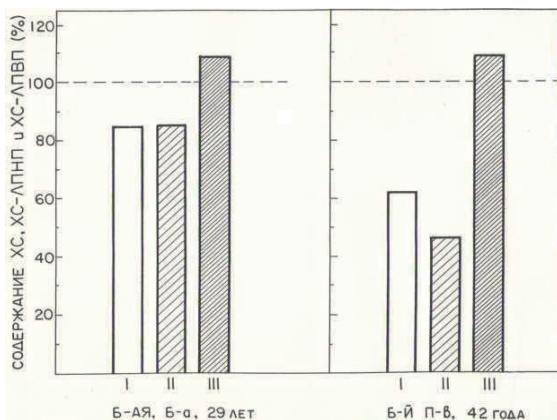


Рисунок 19. Продолжение. Ближайшие результаты плазмообмена у больных семейной ГХС. Данные представлены в виде процентного отношения изучаемых показателей через 2 месяца от начала лечения.

100% - исходные данные. I - ХС; II - ХС-ЛПНП; III - ХС-ЛПВП.

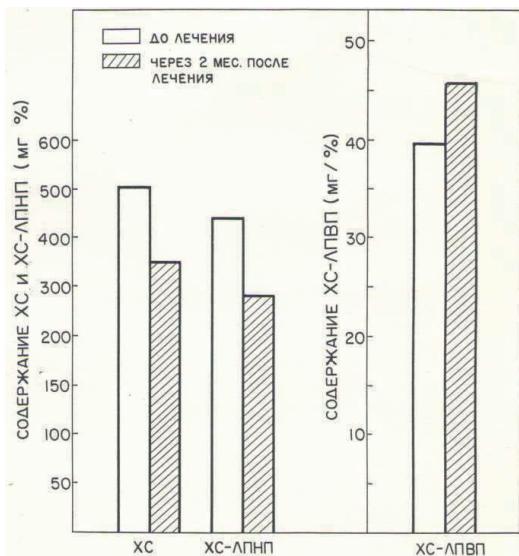


Рисунок 19 (продолжение). Ближайшие результаты плазмообмена у больного Ф., 46 лет с диагнозом "семейная ГХС", через 2 месяца от начала лечения.

Такие результаты в целом свидетельствуют о том, что лечебный эффект плазмообмена у больных семейной ГХС проявляется уже через 2 месяца после курса процедур плазмообмена.

4.3 Терапевтическая эффективность применения длительного курса многократных процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией

Для изучения результатов длительного применения плазмообмена производили сравнение показателей, отражающих содержание холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП у 4-х больных с семейной ГХС перед назначением процедур плазмообмена и аналогичных величин, измеренных в конце курса этих процедур.

Для выяснения эффективности процедур плазмообмена в

лечении больных семейной ГХС изучались также показатели, отражающие состояние сердечно-сосудистой системы больных семейной ГХС (артериальное давление, частота сердечных сокращений, данные ЭКГ, ЭхоКГ, велоэргометрии). Для оценки побочных эффектов длительного применения процедур плазмообмена изучались некоторые показатели гомеостаза (содержание общего белка в крови и альбуминов, электролиты).

В табл.17 отражены результаты лечения 4-х больных семейной ГХС плазмообменом в течение 4-12 месяцев. Данные, представленные в табл., свидетельствуют о том, что в результате лечения плазмообменом в течение 4-12 мес. с интервалом 7-14 дней отмечено стойкое снижение концентрации ХС (на 35-48%), триглицеридов (на 8-50%), ХС-ЛПНП (на 42-50%) и ХС-ЛПОНП (на 8-50%), повышение концентрации ЛПВП (на 5-38%). При этом выявлено увеличение на 100-200%, отношения ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП (рис. 23).

Таблица 17

Содержание (в мг%) основных липидов плазмы крови в процессе лечения плазмообменом

№ пп	Кол-во процедур	ХС			ХС-ЛПНП		
		а	б	%	а	б	%
1.	41	509	317	-38	443	257	-42
2.	36	460	305	-35	409	238	-32
3.	30	528	294	-44	453	227	-50
4.	45	486	254	-48	379	170	-49
ХС-ЛПВП		Триглицериды					
		а	б	%	а	б	%
1.	41	40	47	+18	131	65	-50
2.	36	35	44	+26	126	116	-8
3.	30	24	33	+38	255	164	-36
4.	45	21	22	+5	431	311	-28
ХС-ЛПОНП		ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП					
		а	б	%	а	б	%
1.	41	26	13	-50	0,09	0,18	+100
2.	36	25	23	-8	0,08	0,18	+115
3.	30	51	33	-36	0,05	0,15	+200
4.	45	86	62	-28	0,05	0,13	+160

$$\text{Примечание. } \% = \frac{a - b}{b} \times 100\%$$

Здесь и в табл. 18-20:

а - до лечения, б - после лечения

На рис. 20 представлены данные о динамике снижения уровня содержания холестерина в крови у б-ной Б., с диагнозом "семейная ГХС", которой на протяжении 9 месяцев было произведено 30 процедур плазмообмена.

Можно видеть, что уже в течение первых двух месяцев лечения содержание холестерина снизилось на 38,7% в сравнении с исходной (до лечения) величиной. В течение последующих процедур содержание холестерина в крови продолжало оставаться на более низком (346-376 мг%) уровне и на 28,7-34,4% было меньше аналогичного показателя, измеренного до начала проведенного лечения.

У этой же больной (Б.,29 лет) отмечалось также довольно резкое уменьшение содержания ХС-ЛПНП в начале курса лечения (на 22,3%) с последующей стабилизацией этого показателя на более низком, чем в исходном периоде уровне (рис. 21).

Привлекают к себе внимание и данные по изучению динамики изменений ХС-ЛПВП у этой же больной в процессе лечения. Соответствующие данные отражены на рис. 22. Можно видеть, что в начале курса лечения, вплоть до 4 процедуры, содержание ХС-ЛПВП оставалось на прежнем уровне. Однако в последующие сроки (через 6 месяцев от начала лечения) уровень ХС-ЛПВП постепенно увеличивался и к концу курса лечения превышал показатель, измеренный до начала лечения.

Аналогичная закономерность (снижение содержания холестерина и ХС-ЛПНП с одновременным возрастанием ХС-ЛПВП) отмечалась на протяжении курса плазмообмена и у остальных 3-х больных с семейной ГХС, вошедших в группу обследованных. Остается неясным, какие причины лежат в основе некоторого возрастания ХС-ЛПВП, так как каждая процедура плазмообмена

сопровождается падением уровня ХС-ЛПВП.

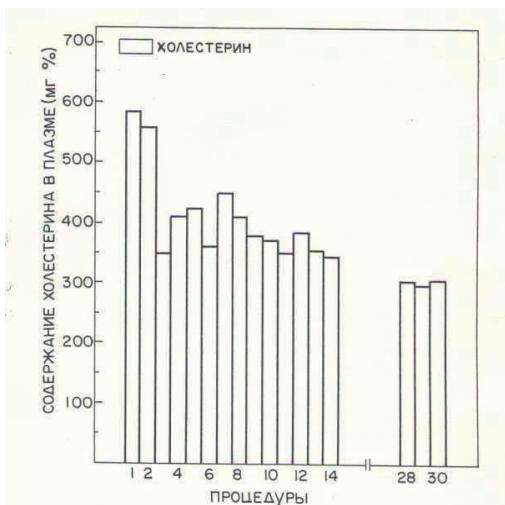


Рисунок 20. Динамика содержания суммарного холестерина в плазме крови больной Б., 29 лет (диагноз — семейная ГХС) в процессе курса лечения плазмообменом.

Каждый столбик на диаграмме отражает содержание ХС в плазме крови перед каждой (1, 2, 3... 30) из процедур плазмообмена.

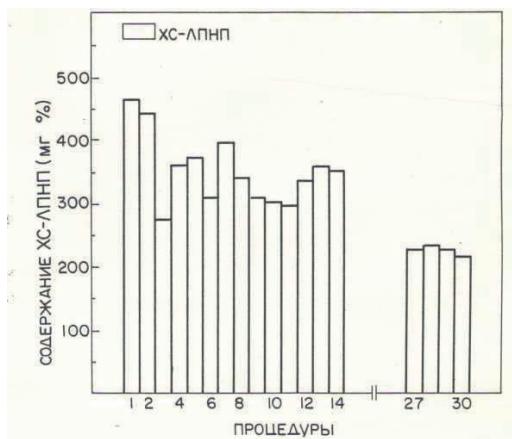


Рисунок 21. Динамика содержания ХС-ЛПНП в крови больной Б., 29 лет, в процессе курса лечения плазмообменом. Каждый столбик на диаграмме отражает содержание ХС-ЛПНП в плазме крови перед каждой (1, 2, 3,.., 30) из процедур плазмообмена.

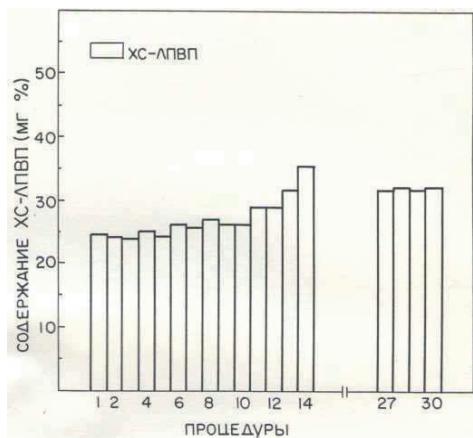


Рисунок 22. Динамика содержания ХС-ЛПВП в крови больной Б., 29 лет, в процессе курса лечения плазмообменом. Каждый столбик на диаграмме отражает содержание ХС-ЛПВП в плазме крови перед каждой (1, 2, 3,.., 30) из процедур плазмообмена.

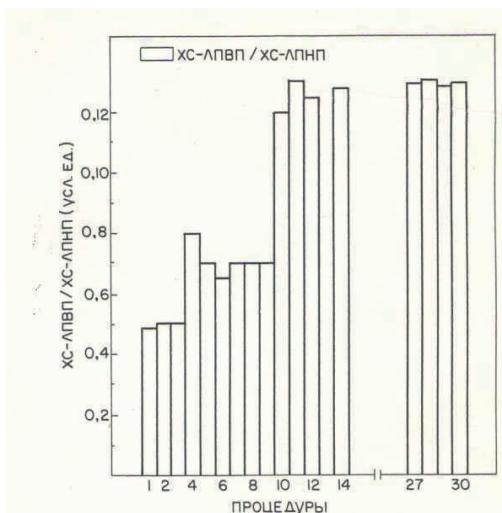


Рисунок 23. Динамика изменений показателя отношения $XС-ЛПВП/XС-ЛПНП$ в процессе курса лечения плазмообменом больной Б., 29 лет.

Каждый столбик на диаграмме отражает содержание $XС-ЛПВП/XС-ЛПНП$ в плазме крови перед каждой (1, 2, 3...,30) из процедур плазмообмена.

Тенденция к нормализации показателей липидного состава крови (снижение $XС-ЛПНП$ и некоторое возрастание $XС-ЛПВП$) сопровождалась улучшением клинического, состояния больных семейной гиперхолестеринемией.

В табл. 18 представлены данные, отражающие состояние сердечнососудистой системы у больных с семейной ГХС до и в конце проведенного курса плазмообмена. Можно видеть, что у 2 больных с исходно повышенным АД отмечена его нормализация (снижение на 20-30%), у остальных 2 больных АД было нормальным с тенденцией к снижению на 10-15%. ЧСС изменилась в пределах нормы, нарушений ритма сердца при проведении плазмообмена не наблюдалось.

Уже через 3-4 мес. лечения плазмообменом у 3 больных существенно улучшилось общее состояние, повысилась работоспособность. У 3 больных приступы стенокардии возникали до 1-4 раз в сутки, у 1 они практически прекратились.

У 1-й больной заболевание протекало волнообразно, с периодами ухудшения и улучшения (больная Б-а, 29 лет). Тolerантность к физической нагрузке у нее достоверно не повысилась. Тяжелых осложнений в процессе лечения не наблюдалось. Из легких осложнений следует отметить появление тошноты в конце процедуры при увеличении объема заменяемой плазмы более 35-40 мл на 1 кг массы тела (8 наблюдений), кратковременное повышение температуры тела до 37,2-37,5°C через 1-2 ч после окончания плазмообмена (6 наблюдений) и снижение АД до 80-90 мм рт.ст. спустя 30-40 мин после окончания процедуры (4 наблюдения). Ни у одного больного за период лечения видимой регрессии ксантом не отмечено.

Подтверждением заключения о том, что длительный (4-12 мес.) курс (14-40 процедуры) применения плазмообмена не приводит к развитию существенных осложнений, являются и результаты изучения белкового состава крови (табл.19).

Таблица 18

Показатели артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС/мин) у больных семейной ГХС в процессе лечения процедурами плазмообмена

Бол ьны е	Воз раст	Масса тела, кг		Количе ство процед ур плазмо обмена	Длител ьность лечени я, мес	АД, мм рт.ст.		ЧСС/мин	
		а	б			а	б	а	б
1	46	74	75	41	12	130/80	115/60	90	76
2	38	63	46	36	11	130/90	110/70	66	86
3	29	44	46	30	8	160/90	110/60	96	70
4	43	73	73	45	4	160/100	110/70	84	76

а - до начала лечения

б - после проведения длительного курса(4-12 мес.) плазмообмена

Таблица 19

Показатели белкового состава крови у больных семейной гиперхолестеринемией в процессе лечения плазмообмена

№ пп	Количест во процедур	Длительн ость лечения в мес.	Общий белок, г/л		Альбумины, %	
			a	б	а	б
1.	41	12	8,1	6,5	50	48
2.	36	11	7,4	6,2	50	55
3.	30	8	7,2	7,5	53	48
4.	45	4	6,9	6,5	65	60

Примечание: а - до начала лечения

б - после проведения длительного курса плазмообмена

Как видно из представленных данных, в процессе лечения не наблюдалось существенного изменения содержания общего белка плазмы и его фракций.

Таким образом, как показал анализ результатов длительного применения процедур плазмообмена у больных семейной ГХС, это лечебное мероприятие способствует нормализации показателей липидного и липопротеидного состава крови. Установлено, что плазмообмен в объеме 30-45 мл на 1 кг массы тела больного в течение 4 мес. - 12 мес. с интервалом 7-14 дней вызывал снижение концентрации ХС, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП на 35-45%, повышение содержания ХС-ЛПВП на 8-38% и существенное изменение отношения ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП.

Это приводило к некоторому улучшению состояния больных с наследственной формой гиперхолестеринемии, уменьшению общей слабости, повышению трудоспособности, урежению ЧСС, уменьшению интенсивности приступов стенокардии. Ни у одного больного ухудшения общего состояния не отмечено.

В целом, полученные нами данные подтверждают выводы других авторов об эффективности плазмообмена у лечения больных с наследственными формами гиперхолестеринемии (Thompson et al., 1977-1987; Berger et al., 1978, 1980; Etta et al., 1980 и др.). Они свидетельствуют о том, что с помощью этой процедуры можно добиться существенного снижения уровня атерогенных классов липопротеидов и в некоторой степени достигнуть повышения уровня ХС-ЛПВП в крови. Несмотря на то, что механизмы, лежащие в основе этого феномена, индуцируемого длительным применением процедур плазмообмена остаются неустановленными (Thompson et al., 1982), тенденция к нормализации соотношения ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП является, очевидно, существенным фактором, способствующим задержке развития новых и даже по последним

данным (Thompson et al. ,1986) регрессии уже имеющихся атеросклеротических изменений артерий у больных семейной ГХС на фоне длительного лечения процедурами плазмообмена.

4.4 Влияние плазмообмена на содержание гормонов в плазме крови больных с семейной гиперхолестеринемией

В предыдущих разделах настоящей главы были представлены данные о лечебном действии плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией. Было показано, что под влиянием курса процедур плазмообмена у этих больных происходит снижение уровня общего холестерина и ХС-ЛПНП в крови и одновременно улучшается клиническое состояние пациентов.

Было также показано, что выраженных побочных эффектов при проведении процедур плазмообмена не отмечается. Остается, однако, неясным, отражается ли использование этого метода на состоянии нейроэндокринной системы больных семейной ГХС, истощая или, наоборот, вызывая чрезмерную гиперфункцию желез внутренней секреции. Систематические сведения о характере влияния плазмообмена на гормональные системы практически отсутствовали. Изучали содержание некоторых гормонов в плазме крови у 4-х больных семейной ГХС в динамике применения плазмофереза исследовали содержание инсулина, С-пептида, ангиотензина I, альдостерона, эстрadiола, тестостерона, кортизола, кальцитонина, паратгормона и соматотропного гормона радиоиммунологическими методами с применением необходимых для этой цели наборов.

В табл. 20 представлены данные о содержании гормонов в крови больных семейной ГХС и о влиянии однократной процедуры плазмообмена на эти показатели.

Как следует из данных таблицы, содержание гормонов в

образцах плазмы крови больных семейной ГХС соответствовало физиологически нормальным значениям, за исключением повышенных концентраций инсулина и С-пептида в тех образцах плазмы, которые были получены непосредственно перед процедурами плазмообмена. Высокие уровни концентрации инсулина ($38,76 \pm 4,22$ мкЕд/мл при нормальных показателях 3-20 мкЕд/мл) и С-пептида ($5,36 \pm 0,52$ нг/мл при норме 0,6-4,4 нг/мл) могут свидетельствовать о повышенном синтезе инсулина у обследованных больных.

При проведении плазмообмена имели место определенные изменения концентрации некоторых из изученных гормонов в крови: снижение исходно высоких значений инсулина и С-пептида, уменьшение концентрации ангиотензина и кортизола. Достоверных изменений содержания тестостерона, эстрадиола, альдостерона, паратгормона и кальцитонина выявлено не было. Содержание СТГ в плазме крови к окончанию процедуры плазмообмена возрастало и вдвое превосходило исходную концентрацию, определенную перед процедурой ($8,71 \pm 1,48$ нг/мл в конце процедуры при $4,82 \pm 0,79$ нг/мл в начале).

На рис. 24 представлены данные определения содержания СТГ и инсулина в плазме крови больного Ф., 46 лет, в динамике многократного применения плазмообмена. Этот пример демонстрирует определенную, описанную выше закономерность изменения содержания указанных гормонов в плазме крови при плазмообмене, а также свидетельствует в пользу того, что при многократном применении процедур плазмообмена динамика изменения гормонов может иметь волнобразный характер. Действительно, анализ индивидуальных данных измерений содержания отдельных гормонов показывает, что волнобразный характер изменений их концентрации в крови присущ многим

гормонам. Так, в течение процедуры плазмообмена содержание инсулина, С-пептида, ангиотензина и кортизола обычно существенно снижалось с последующим восстановлением (в течение 7-10 дней) до прежних уровней к началу следующей процедуры.

Изменения содержания альдостерона и тестостерона у мужчин носили в целом аналогичный характер, но не были столь ярко выражены. Содержание эстрадиола у мужчин и гормонов, регулирующих обмен кальция - паратгормонов и кальцитонина в динамике процедуры плазмообмена не существенно повышалось с последующим незначительным снижением к началу следующей процедуры. Уровень СТГ существенно и закономерно возрастал в динамике отдельной процедуры, однако к началу следующей процедуры его концентрация в крови снижалась.

Вместе с тем были выявлены и некоторые индивидуальные особенности реакции эндокринных систем у отдельных больных. Так, если у 3 из обследованных больных колебания концентрации СТГ в плазме крови лежали в пределах от 3,4 до 21,0 нг/мл, то у больного П., 42 лет, эти изменения находились в интервале от 0,1 до 3,1 нг/мл; при этом у больного П. не было выявлено столь закономерного подъема содержания СТГ во время плазмообмена, как это было отмечено у остальных обследованных.

Измерения содержания эстрадиола в плазме крови больной К., 39 лет, при многократном применении процедур (в течение 20 недель лечения) выявило существенные колебания концентрации этого гормона, что, вероятно, отражало динамику его содержания в крови, соответствующую фазу овариального цикла.

Таблица 20

Влияние процедуры плазмообмена на содержание гормонов в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией

Наименование гормона и единицы измерения	Верхняя и нижняя границы физиологической нормы ^x	Кол-во опытов	Содержание гормонов в плазме ($M \pm m$)		P
			до начала процедуры	в конце процедуры	
Инсулин, мкЕд	3-20	31	38,76±4,22	22,02±1,25	<0001
С-пептид, нг/мл	0,6-4,4	20	5,36±0,52	3,70±0,33	<0,01
Ангиотензин-I ПРА, нг/мл/час	0,2-2,8	11	0,62±0,14	0,28±0,09	<0,05
Альдостерон, пг/мл	36-94	15	68,13±9,59	50,93±10,9 ₃	>0,05
Эстрadiол, ^{xx} пг/мл	10-50	16	26,43±2,01	28,71±1,69	>0,05
Тестостерон, ^{xx} нг/мл	4-9	13	5,4±0,6	5,0±0,8	>0,05
Паратгормон, нг/мл	0,15±0,6	19	0,24±0,07	0,36±0,1	>0,05
Кортизол, нмоль/л	220-450	10	302,0±46,9	159,9±15,9	<0,05
Кальцитонин, пг/мл	0-150	19	12,62±3,73	15,68±3,57	>0,05
СТГ, нг/мл	1-10	35	4,82±0,79	8,71±1,48	<0,05

x) Физиологические нормы приведены из данных, отраженных в инструкциях по использованию соответствующих наборов для определения гормонов.

xx) Приведены значения, определенные только у мужчин.

xxx) Количество опытов - число процедур плазмообмена, до начала и в конце каждой из которых измерялось содержание в крови гормонов, указанных в таблице.

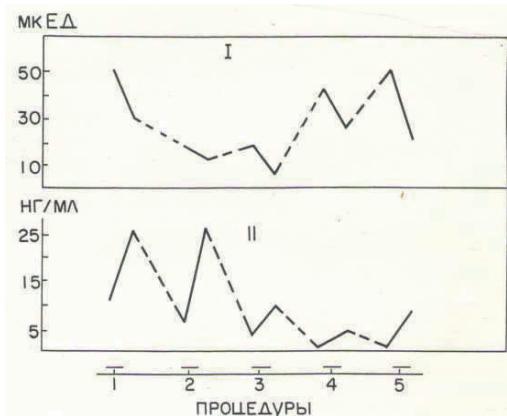


Рисунок 24. Изменения содержания инсулина (I) и соматотропного гормона (II) у больного Ф., 46 лет, в плазме крови в динамике многократного применения плазмообмена.

— динамика изменения гормонов в течение процедуры плазмообмена;
 - - - - динамика изменения содержания гормонов в межпроцедурный период.

Таким образом, при процедурах плазмообмена происходят сдвиги гормонального профиля, функциональная значимость которых остается недостаточно понятной. Причиной уменьшения концентрации инсулина, С-пептида, ангиотензина I и кортизола, происходящего во время процедур плазмообмена, является, по-видимому, механическое удаление этих гормонов из крови. Отсутствие изменений в содержании эстрадиола, тестостерона, паратгормона, кальцитонина может быть обусловлено компенсаторной реакцией соответствующих эндокринных желез (яичников, testiculov, паращитовидной железы) на процедурах плазмообмена. Для выяснения механизмов, лежащих в основе повышения уровня СТГ под влиянием плазмообмена, необходимы

дополнительные исследования.

Не зависимо от причин, приводящих к изменению уровня исследуемых гормонов под влиянием плазмообмена, можно предположить, что для восстановления гормонального профиля, наблюдающегося в промежутке между процедурами, эндокринные железы должны функционировать на более высоком, чем в обычных условиях уровне. Это, в свою очередь, может привести к истощению желез внутренней секреции во время длительного курса процедур плазмообмена .

Такие данные свидетельствуют о некоторых ограничениях плазмообмена как лечебной процедуры,, так как применение этого метода может привести к нежелательным побочным эффектам, связанные с необходимостью функционирования эндокринных желез на повышенном уровне.

4.5 Состояние тромбоцитов при проведении процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией

Проведение плазмообмена требует применения экстракорпорального кровообращения. При этом происходит длительный контакт крови с искусственными поверхностями, который в свою очередь может приводить к активации тромбоцитов.

В литературе существуют указания, что плазмообмен может сопровождаться изменением состояния тромбоцитов. King et al. (1980) наблюдали при проведении этой процедуры снижение количества, а Brook et al. (1983) - снижение агрегационной активности тромбоцитов. Однако условия проведения процедур плазмообмена в цитируемых выше работах отличались от примененной нами методики лечения больных семейной ГХС.

В связи с вышеизложенным мы сочли целесообразным изучить влияние процедур плазмообмена на: I) содержание тромбоцитов; 2)

агрегационную активность тромбоцитов по отношению к АДФ и аналогу тромбоксана A₁/простагландиновых эндоперекисей -U46619; 3) способность тромбоцитов к адгезии и распластыванию на поверхности коллагенового субстрата у больных с семейной ГХС.

Полученные результаты приведены в табл.21-24.

Таблица 21

Снижение содержания и активности тромбоцитов после проведения процедур плазмообмена^X

Показатели	До процедуры	После процедуры	Достоверность различий
Содержание тромбоцитов в отп. 10^{-9}	1,20±0,02	0,74±0,01	p < 0,005
Объем ОТП, мл	2,86±0,40	2,43±0,41	н.д.
АДФ-агрегация, пороговая доза мкМ	2,10±0,78	2,70±0,49	н.д.
U46619-агрегация, пороговая доза, мкМ	0,68±0,11	1,18±0,22	< 0,001
Адгезия KIV $10^{-3}/\text{мм}^2$	2,23±0,59	1,55±0,24	н.д.
Распластывание KIV %	22,4±4,0	12,2±2,3	<0,05

^X - Кровь брали непосредственно перед началом (до) и сразу после окончания (после) процедуры. Приведены средние * ошибки среднего. Достоверность различий между группами "до" и "после" оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для пар. н.д. - различия недостоверны ($p>0,05$).

Как видно из табл.21, проведение плазмообмена приводит к снижению количества тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме (ОТП). Объем ОТП в результате проведения процедуры не изменился. Таким образом, можно предположить, что снижение содержания тромбоцитов в ОТП отражает уменьшение их количества в цельной крови.

При исследовании агрегационной активности тромбоцитов мы определяли пороговые дозы АДФ и U46619, вызывающие необратимую агрегацию, до и после проведения процедуры. Как видно из табл.21, проведение процедур плазмообмена не сопровождалось выраженным снижением или повышением чувствительности тромбоцитов к АДФ. Незначительное повышение пороговых доз АДФ при плазмообмене статистически недостоверно. В отличие от АДФ, чувствительность тромбоцитов к U46619 снижалась при плазмообмене. Это выражалось в достоверном ($p<0,05$) повышении пороговой дозы индуктора.

Снижение активности тромбоцитов непосредственно после окончания процедур плазмообмена отмечалось при исследовании взаимодействия тромбоцитов с коллагеном IV типа (КIV). Этот субстрат, в отличие от коллагена I-го (КI) и III-го (КIII) типа, не стимулирует агрегации тромбоцитов, но он удобен для измерения способности тромбоцитов к адгезии и распластыванию (Leytin et al., 1980). После проведения процедуры плазмообмена наблюдалась тенденция к снижению показателей адгезии тромбоцитов на субстрате ($p>0,05$). В то же время показатель распластывания тромбоцитов на этом же субстрате достоверно ($p<0,05$) снизился к концу процедуры плазмообмена.

Таблица 22

Снижение содержания и активности тромбоцитов после проведения процедур ЛПНП-иммunoфереза и плазмообмена с последующим ЛПНП-иммunoферезом^X

Показатели	ИФ, n=8		ПО/ИФ, n=15	
	до	после	до	после
Содержание тромбоцитов в ОТП	1,39±0,02 p<0,001	0,90±0,01	1,30±0,02 p<0,001	0,82±0,01
Объем ОТП, мл	4,19±0,50 н.д.	4,25±0,45	3,40±0,39 н.д.	3,57±0,36
АДФ-агрегация, пороговая доза, мкМ	1,57±0,25 н.д.	1,14±0,30	1,79±0,34 н.д.	1,79±0,34
U46619-агрегация, пороговая доза, мкМ	0,66±0,36 p<0,05	1,10±0,16	0,67±0,09 <0,005	1,14±0,12
Адгезия KIV 10 ⁻³ /мм ²	2,14±0,28 p <0,005	1,09±0,19	2,24±0,31 <0,01	1,32±0,16
Распластывание KIV %	30,8±8,8 p<0,05	14,8±1,7	26,6±4,8 <0,005	13,5±2,0

^X - Условия опытов и оценка достоверности между показателями те же, что и в табл.21

Для выяснения вопроса о том, обусловлены ли изменения функционального состояния тромбоцитов особенностями проведения процедуры плазмообмена или они связаны с контактом крови с компонентами экстракорпоральной системы кровообращения, были изучены исследуемые показатели функциональной активности тромбоцитов, также у одной больной, которой производились процедуры ЛПНП-иммunoфереза и 5 больных, которым после курса

плазмообмена выполнялись процедуры иммунофереза. Результаты этой серии исследований представлены в табл. 22.

Сравнение данных, представленных в табл. 21 и 22, показывает, что снижение содержания тромбоцитов в ОТП при проведении процедуры ЛПНП-иммунофереза выражен в такой же степени, как и при плазмообмене. Так же, как и процедура плазмообмена, ЛПНП-иммуноферез не сопровождался выраженным изменением АДФ-индуцируемой агрегации тромбоцитов. Так же, как и при плазмообмене (см. табл. 21), при ЛПНП-иммуноферезе (табл. 22) снижалась чувствительность тромбоцитов к U46619. Это выражалось в достоверном повышении пороговой дозы индуктора. Так же, как и при плазмообмене, при ЛПНП-иммуноферезе (ИФ) отмечалось недостоверное снижение степени адгезии и распластывания тромбоцитов на субстрате КIV.

При сведении данных по адгезии в одну группу (ПО/ИФ, табл. 22), различие в уровнях адгезии до и после процедур было высоко достоверно. Различия между средними уровнями распластывания во всех случаях были статистически достоверными и выражены приблизительно одинаково при плазмообмене и ЛПНП-иммуноферезе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения активности тромбоцитов так же, как и изменение их содержания в ОТП, приблизительно одинаково выражены при плазмообмене (ПО) и ЛПНП-иммуноферезе. Таким образом, эти сдвиги не могут быть связаны с особенностями каждой из используемых процедур, такими, как: замена части плазмы на раствор альбумина и снижение содержания белков, участвующих в адгезии и агрегации (при плазмообмене); перфузия плазмы через колонки с антителами (при ЛПНП-иммуноферезе). В связи с этим можно сделать вывод, что в обоих случаях снижение содержания и активности тромбоцитов

сразу после проведения процедур обусловлено введением экстракорпорального круга кровообращения. Очевидно, что так же, как и при других хирургических и терапевтических вмешательствах, связанных с экстракорпоральным кровообращением, снижение счета и активности тромбоцитов при ПО и ИФ могут объясняться: 1) удалением из крови наиболее активных тромбоцитов, задерживающихся на элементах перфузационной системы и 2) переходом тромбоцитов после активации в перфузационной системе (контакт с искусственными поверхностями, центрифугирование, действие насоса и т.д.) в рефрактерное состояние (Симбирцев с соавт., 1979; Musial et al., 1982).

Для того, чтобы выяснить способность к восстановлению исходного состояния тромбоцитов за период между процедурами, мы измерили у 6 больных содержание и параметры агрегации и адгезии тромбоцитов перед проведением следующей процедуры (табл.23).

Оказалось, что за это время, прошедшее между процедурами (в среднем 2 недели) содержание тромбоцитов и их способность к агрегации и адгезии полностью восстанавливаются, т.е. возвращаются к исходному уровню, наблюдаемому до проведения предыдущей процедуры. Лишь уровень распластывания тромбоцитов восстанавливался не полностью (приблизительно на 70% по сравнению с исходным), однако это различие было статистически недостоверным.

Мы пытались также определить, не наблюдается ли существенных сдвигов в состоянии тромбоцитов у наблюдавших нами больных (гиперхолестеринемия + лечение ПО и/или ИФ по сравнению с нормой, т.е. со здоровыми донорами. Для этого мы сравнили группу больных, находящихся на длительном лечении ПО и/или ИФ (более полугода) с группой здоровых доноров (табл.24). В группе больных был резко снижения уровень распластывания

тромбоцитов и наблюдалось близкое к достоверному снижение пороговой дозы АДФ ($p = 0,08$) и повышение уровня адгезии тромбоцитов ($p = 0,07$).

Таблица 23

Восстановление содержания и активности тромбоцитов за период между процедурами плазмообмена и иммunoфереза

	Перед предыдущей процедурой	Перед последующей процедурой
Содержание тромбоцитов в ОТП 10^9	$1,64 \pm 0,15$	$1,71 \pm 0,09$
АДФ-агрегация, пороговая доза, мкМ	$2,40 \pm 0,70$	$2,30 \pm 0,46$
U46619-агрегация, пороговая доза, мкМ	$0,58 \pm 0,17$	$0,68 \pm 0,18$
Адгезия к KIV, $10^{-3}/\text{мм}^2$	$2,06 \pm 0,39$	$2,03 \pm 0,33$
Распластывание на KIV, %	$35,1 \pm 9,4$	$24,3 \pm 12,0$

Измерения проводили непосредственно перед проведением процедур. Средний интервал между процедурами - 2 недели. Приведены средний \pm ошибки среднего ($p=6$). Достоверность различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для пар. Везде различия недостоверны.

Таблица 24

Содержание и активность тромбоцитов у здоровых доноров и больных с семейной гиперхолестеринемией, находящихся на длительном лечении плазмообмена + ЛПНП-иммunoфереза

	Здоровые доноры (n=20)	Гиперхолестеринемия + ПО и ИФ (n=6)
Счет тромбоцитов в ОТП $10^8/\text{мл}$	$3,69 \pm 0,26$	$3,56 \pm 0,22$
АДФ-агрегация, пороговая доза, мкМ	$3,07 \pm 0,33$	$1,83 \pm 0,51$
U46619-агрегация, пороговая доза, мкМ	$0,61 \pm 0,05$	$0,71 \pm 0,12$
Адгезия KIV $10^{-3}/\text{мм}^2$	$1,46 \pm 0,14$	$1,99 \pm 0,17$
Распластывание KIV, %	$49,8 \pm 4,3$	$18,0 \pm 5,0^{XXX}$

Приведены средние \pm ошибки среднего. Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента для средних.

^{XXX} *p* - $<0,001$. Без звездочек - недостоверно.

Повышение чувствительности тромбоцитов к АДФ и повышение адгезивной активности, по-видимому, не связаны с проведением плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза, т.к. 1) проведение процедур не приводило к изменению пороговой дозы АДФ и не повышало, а, наоборот, снижало уровень адгезии тромбоцитов (табл.25); 2) повышение чувствительности к АДФ и повышение агрегационной активности тромбоцитов отмечалось

ранее у больных с семейной гиперхолестеринемией, не находящимися на лечении ПО и ИФ (Carvallo et al., 1974; Di Minno, 1986). Низкий уровень распластывания у исследованных больных скорее связан с проведением процедур. Этот показатель резко снижался сразу после проведения сеансов ПО и ИФ (табл.21 и 22) и не полностью восстанавливался за период между процедурами (табл.23).

Результаты, представленные в настоящем разделе, в целом свидетельствуют о том, что проведение процедур плазмообмена и иммуносфереза приводит сразу после сеанса к снижению содержания и активности тромбоцитов. Эти изменения приблизительно одинаково выражены при проведении обоих процедур и, очевидно, связаны с использованием экстракорпорального круга кровообращения. Наблюдаемые изменения носят преходящий характер. Содержание тромбоцитов и показатели их агрегационной и адгезивной активности восстанавливаются к моменту проведения следующей процедуры. Длительное применение процедур также не приводит к снижению содержания и изменению основных функциональных свойств тромбоцитов (кроме способности к распластыванию). Полученные данные позволяют предположить, что кратковременные изменения состояния тромбоцитов, наблюдаемые сразу после окончания процедур, не являются препятствием для длительного и регулярного проведения плазмообмена и иммунофереза.

4.6 Изучение побочных эффектов плазмообмена с помощью макромолекулярного мониторинга

Процедуры плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией в некоторых случаях сопровождались легкими осложнениями: появлением тошноты, кратковременным

повышением температуры, снижением артериального давления. В работах, посвященных анализу осложнений при применении плазмообмена для лечения заболеваний, не связанных с нарушениями обмена липопротеидов, сообщаются сведения о кратковременных нарушениях показателей гуморального иммунитета, свертывающей системы крови и фибринолиза при удалении больших объемов плазмы больного с последующим ее замещением белковыми фракциями донора.

В связи с вышеизложенным возникла необходимость изучения возможных побочных эффектов плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией с помощью информативных критериев.

С помощью твердофазных иммуноферментных методов изучали содержание 6 белков, отражающих состояние ретикулоэндотелиальной системы (фибронектин), свертывающей системы (фибриноген), иммунной системы (иммуноглобулины трех классов - G, M, A) и липидного обмена (апо B). Прослежена динамика каждого белка в процессе проведения 15 сеансов плазмообмена у 4 больных с семейной гиперхолестеринемией.

Таблица 25

Результаты макромолекулярного мониторинга однократных процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией (мкг/мл)

Пока зател и	Больные											
	I			II			III			IV		
	до	пос ле	%	до	пос ле	%	до	пос ле	%	до	пос ле	%
Apo B	2,5	2,0	-20	2,4	1,9	-20,8	3,0	2,4	-20,6	2,0	1,6	-20,0
Фибронектина	1,6	1,4	-12,5	1,2	0,5	-58,3	1,4	0,6	-57,4	1,3	0,7	-46,1
Фибриногена	10000	9500	-5	8500	8000	-5,8	8500	7000	-17,6	6000	5000	-16,6
Иммуноглобулины A	1,2	0,8	-33	1,6	0,7	-56,2	1,8	1,5	-16,6	1,8	0,9	-50,0
M	1,1	0,9	-19	1,1	0,6	-45	13	0,42	-68	1,1	0,7	-36,3
G	1,9	1,7	-10,5	1,3	1,0	-23	1,7	1,5	-12	1,9	1,0	47,3

Примечание: "до" - концентрация исследуемого белка перед процедурой плазмообмена

"после" - концентрация исследуемого белка через час после процедуры плазмообмена

$$\% = \frac{a - \delta}{a} \times 100\%$$

В табл.24 отражены данные по изучению содержания исследуемых белков в крови больных семейной ГХС в процессе выполнения однократных процедур плазмообмена.

Как свидетельствуют представленные в таблице данные, у всех больных после применения плазмообмена происходит снижение содержания апо В (на 20,0%). Это согласуется с результатами других авторов (Thompson et al., 1978, 1983, 1987, Berger et al., 1980; Etta et al., 1980) и приведенными выше данными о терапевтической эффективности плазмообмена у больных семейной ГХС: эта процедура позволяет добиться резкого снижения содержания ХС-ЛПНП в плазме крови. Уменьшение концентрации апо-В под влиянием однократных процедур плазмообмена является более корректным доказательством эффективности данного метода в лечении больных с повышенным уровнем ЛПНП.

Анализ изученных параметров показал, однако, что плазмообмен существенно отражается и на функциональном состоянии ретикулоэндотелиальной и иммунной систем. Так, у всех больных после однократной процедуры плазмообмена происходило выраженное снижение содержания фибронектина (от 12,5 до 58,3%) в сравнении с исходными величинами. Отмечалось также достоверное уменьшение уровня иммуноглобулина G в крови (от 10,5% до 47,3% в сравнении с аналогичными показателями, измеренными до процедуры), иммуноглобулинов A/ (от 16,8-56,2%) и M/ (от 18,9 до 67,7%).

Представляло интерес установить, отражается ли применение курса процедур плазмообмена на содержании изучаемых белков в плазме крови больных семейной ГХС. С помощью макромолекулярного мониторинга исследовали уровни содержания апо В, фибропектина, фибриногена и иммуноглобулинов А, М и G до и через 3-5 сеансов плазмообмена в крови больных семейной ГХС.

Результаты иммуноферментного анализа представлены в табл.25.

Таблица 26

Результаты макромолекулярного мониторинга многократных процедур плазмообмена у больных семейной гиперхолестеринемией (мкг/мл)

Показатели	Больные											
	I			II			III			IV		
	до	после	%	до	после	%	до	после	%	до	после	%
Апо В	2,98	1,62	-4,6	3,0	1,98	-34	3,24	2,16	-33	3,24	0,66	-79
Фибронектин	160	70	-56	120	30	-75	320	160	-50	70	20	-71
Фибриноген	10000	10000		8000	8500	6	5500	9000	63	6000	7000	17
Иммуноглобулины	1,2	0,8	-33	0,52	0,31	403	1,16	0,52	-56	—	—	—
M	1,10	0,67	-39	0,42	0,27	-36	1,32	0,76	-42	—	—	—
G	9,0	6,4	-29	13,2	10,6	-20	12,8	0,61	-95	—	—	—

Примечание: "до" - содержание белков перед началом первой процедуры

"после" - содержание белков через дней после 3-5 процедуры

$$\% = \frac{a - \delta}{a} \times 100\%$$

Отчетливо видно, что концентрация апо-B, до начала исследования составлявшая у больных семейной ГХС от 2,98 мг% до 3,24 мг%, после 3-5 сеансов плазмообмена уменьшалась на 33%-79% в сравнении с исходными величинами.

Снижение содержания апо-B после 3-5 процедуры плазмообмена является дополнительным доказательством в пользу эффективности применения этого метода лечения у больных семейной ГХС.

В то же время уменьшение концентрации фибронектина (на 50% - 75%) и иммуноглобулинов А (на 33,3-55,1%) и М (на 35,7-42,4%) является свидетельством возможности побочных эффектов при применении процедур плазмообмена. Действительно, снижение содержания фибронектина, отражающего функциональное состояние ретикулоэндотелиальной системы, может указывать на нарушение резистентности больных, перенесших процедуры плазмообмена, к инфекциям. Это предположение тем более правомерно, что содержание иммуноглобулинов А и М также снижается после процедур плазмообмена.

Для окончательной оценки значимости обнаруженных изменений необходимы дальнейшие исследования. Однако возможность развития побочных реакций, связанных с изменениями в содержании белков, отражающих функциональное состояние ретикулоэндотелиальной, иммунной и свертывающей систем, указывает на некоторые ограничения плазмообмена как лечебного мероприятия.

Таким образом, представленные в настоящей главе данные свидетельствуют об эффективности применения плазмообмена в комплексном лечении больных семейной гиперхолестеринемией.

Установлено, что во время каждой процедуры плазмообмена происходит значительное снижение содержания холестерина в плазме крови. При этом, одновременно с удалением из крови липопротеидов атерогенных классов (ЛПНП), происходит также и достаточно выраженное уменьшение содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной ГХС.

Указанные выше изменения липидного состава крови кратковременны: через 7-10 дней после процедуры уровень холестерина, а также содержание ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП вновь возвращаются к исходным (до проведения процедуры) показателям. Однако даже после кратковременного курса процедур плазмообмена в крови больных с семейной гиперхолестеринемией наблюдается тенденция к нормализации показателей липидного обмена.

Лечебное действие плазмообмена особенно отчетливо проявляется после длительного (4-12 мес.) курса применения этих процедур у больных с семейной ГХС. В этот период, одновременно с дальнейшей тенденцией к нормализации липидного и липопротеидного состава крови, отмечается и улучшение клинического состояния больных.

Проведенное исследование также показало, что при применении курса процедур плазмообмена выраженных побочных эффектов не возникает. Однако, как показало проведенное исследование, под влиянием процедур плазмообмена возникают волнообразные изменения гормонального профиля у больных семейной ГХС. Независимо от механизма, лежащего в основе обнаруженных нами изменений гормонального профиля, полученные данные позволяют предположить, что для поддержания уровня гормонов в пределах возрастной нормы, на протяжении курса плазмообмена эндокринные железы должны функционировать на повышенном уровне.

Как показали данные исследований, результаты которых представлены в последнем разделе главы, применение плазмообмена связано с возможностью осложнений, вызванных нарушением ретикулоэндотелиальной и иммунной систем.

Такие данные указывают на некоторые ограничения плазмообмена как метода лечения больных с семейной ГХС и свидетельствуют о необходимости применения более селективных способов удаления ЛПНП у данной категории больных.

Глава 5. ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛПНП-ИММУНОФЕРЕЗА У БОЛЬНЫХ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Стремление избежать неконтролируемого извлечения широкого спектра компонентов плазмы крови у больных семейной гиперхолестеринемией привело в последние годы к созданию метода, позволяющего селективно удалять избыток липопротеидов низкой плотности: ЛПНП-иммуноферез (Stoffel et al., 1981; 1983; 1985; Borberg et al., 1983; Parker et al., 1986). Были разработаны колонки с сорбентом для удаления ЛПНП с помощью антител, иммобилизованных на сефарозе (Покровский с соавт., 1985; 1986). Начиная с 1984 года, метод ЛПНП-иммунофереза применяется в комплексном лечении больных с семейной гиперхолестеринемией. В процессе клинических исследований были получены данные, указывающие на эффективность применения метода ЛПНП-иммунофереза у больных с семейной ГХС. Одновременно на клеточных моделях нами была доказана перспективность применения ЛПНП-иммунофереза как метода, способствующего регрессии атеросклеротических изменений в артериях.

В настоящей главе представлены и обсуждены клинико-экспериментальные доказательства целесообразности применения ЛПНП-иммунофереза в лечении больных семейной гиперхолестеринемией.

6.2. Эффективность ЛПНП-иммунофереза в лечении больных семейной гиперхолестеринемией

Изучение лечебного действия ЛПНП-иммунофереза было произведено на основании данных, полученных в ходе применения этого метода у 5 больных семейной ГХС, четырем из которых на предварительном этапе проводилось 4-10 процедур плазмообмена.

Одному больному процедуры плазмообмена не выполнялись (Б-н, 39 лет) и другому - плазмообмен выполняли на протяжении 12 мес.

В табл.26 представлены данные о клинической характеристики больных, подвергнутых процедурам ЛПНП-иммunoфереза.

Таблица 27

Клиническая характеристика больных семейной ГХС (до ЛПНП-иммunoфереза)

№ ист.б-ни	51	897	1857	852	3359
Пол	м	м	м	ж	м
Возраст	41	39	33	29	54
Стенокардия (функциональный класс)	II	-	II	IV	III
Данные ВЭМ					
проба	полож.	отриц.	полож.	полож.	полож.
толерантность к физической нагрузке	средн.	высокая	средн.	низкая	низная
Мощность пороговой нагрузки кгм/мин	600	750	600	300	300
Стеноз коронарной артерии (%)					
левая нисходящая	70	50	82-92	Диффузн. изменения	80
правая	75	0	0	-“-	75
огибающая	50	0	0	-“-	0
Уровень содержания в плазме крови (мг%) общего ХС					
	478	391	410	668	580
ХС-ЛПНП	404	324	340	587	525
ХС-ЛПВП	58	39	31	41	33

Процедуры ЛПНП-иммunoфереза выполняли по методу, подробно описанному в гл.2. Для проведения ЛПНП-иммunoфереза использовали колонку, содержащую моноспецифичные поликлональные антитела против ЛПНП человека, ковалентно

связанные с сефарозой. Процедуры выполняли с частотой один раз в 7-10 дней на протяжении 12-18 месяцев (табл.27).

Для оценки эффективности ЛПНП-иммunoфереза в лечении больных семейной ГХС в динамике каждой процедуры и один раз в 7-10 дней на протяжении всего курса лечения изучали показатели липидного (холестерин и триглицериды) и липопротеидного (ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, ХС-ЛПВП, апо В) состава крови, а также один раз в 2 месяца производили комплексное клинико-инструментальное обследование больных.

5.1.1 Влияние однократных процедур ДПНП-иммunoфереза на содержание холестерина и липопротеидов в плазме крови больных семейной ГХС

В табл. 28 отражены данные по изучению содержания уровня холестерина в крови у 5 больных семейной ГХС до и после первых пяти процедур ЛПНП-иммunoфереза.

Можно видеть, что сразу же после проведения первой процедуры ЛПНП-иммunoфереза уровень содержания холестерина в плазме всех больных семейной ГХС резко снижался (на 21,3-66,6%). Эффект ЛПНП-иммunoфереза иллюстрируется и результатами, представленными на рис. 25. Как свидетельствуют данные, полученные в ходе определения холестерина в плазме крови этого больного, уровень содержания холестерина, до проведения ЛПНП-иммunoфереза, равный 267мг%, резко снижался во время процедуры и к концу ее выполнения уменьшился до 111мг%.

Таблица 28

Длительность курса ЛПНП-иммунофереза у больных семейной гиперхолестеринемией

№ пп	Длительность лечения		Количество процедур	
	плазмообмен	ЛПНП- иммуноферез	плазмообмен	ЛПНП- иммуноферез
1	1	16	5	55
2	-	12	-	43
3	2,5	17	10	40
4	8	24	30	80
5	1	17	6	45

Данные, представленные в табл.28 и на рис. 25-29, свидетельствуют также о том, что в течение первых дней после ЛПНП-иммунофереза уровень холестерина в плазме крови постепенно повышается и через 7-10 дней возвращается к исходным величинам. Поэтому для поддержания низкого уровня холестерина было необходимо проводить многократные процедуры ЛПНП-иммунофереза.

Изучение содержания холестерина в плазме крови больных семейной ГХС в динамике проведения первых 10 процедур ЛПНП-иммунофереза показало, что содержания ХС, уровень которого был резко уменьшен на предварительном этапе под влиянием первых 2-10 процедур плазмообмена, при проведении ЛПНП-иммунофереза оставалось на значительно более низком, чем в исходном периоде, уровне.

В табл. 29 отражены данные о содержании ХС-ЛПНП в крови

больных семейной ГХС до и после каждой из пяти первых процедур ЛПНП-иммunoфереза.

Можно видеть, что уровень холестерина, входящего в состав ЛПНП, уменьшенное под влиянием процедур плазмообмена, оставался на низком уровне при проведении ЛПНП-иммunoфереза. При этом низкий уровень ХС-ЛПНП достигался в результате выполнения процедур ЛПНП-иммunoфереза с частотой один раз в 10-15 дней.

В то же время уровень ХС-ЛПВП в крови больных семейной ГХС под влиянием процедур ЛПНП-иммunoфереза практически не изменялся (табл. 30).

Полученные нами данные согласуются с результатами и выводами исследования Stoffel с соавт. (1981), в котором была доказана селективность метода ЛПНП-иммunoфереза в удалении атерогенных классов липопротеидов из плазмы крови больных семейной ГХС.

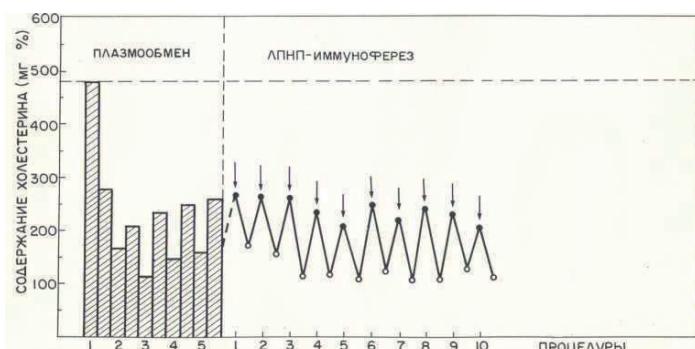


Рис. 25а Влияние первых десяти процедур ЛПНП-иммunoфереза на содержание суммарного холестерина в плазме крови больного С., 41 года.

Примечание: столбики - первые 5 процедур - подготовительный этап (плазмообмен)

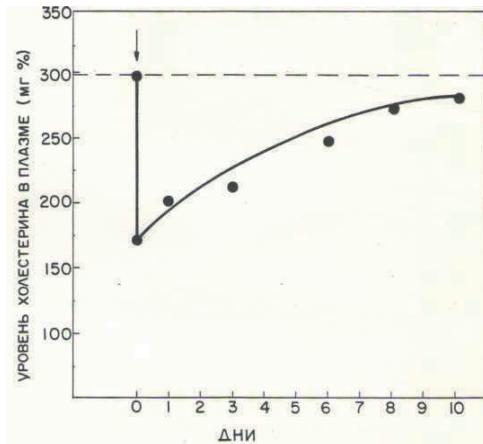


Рисунок 25а. Непосредственный эффект однократной процедуры ЛПНП-иммунофереза на содержание суммарного холестерина в плазме крови больного Б-н, 39 лет, и.б. № 391.

Диагноз: семейная гиперхолестеринемия ПА-типа, гетерозиготная форма.

Стрелкой обозначен день проведения процедуры ЛПНП-иммунофереза.

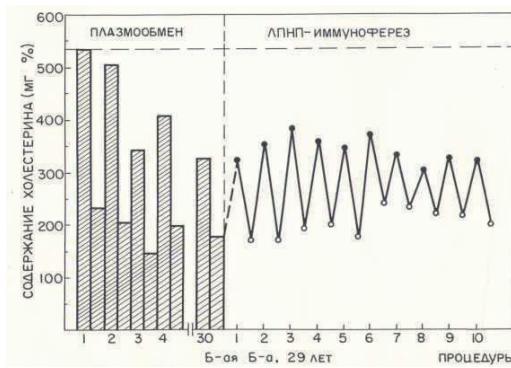


Рисунок 26. Влияние первых десяти процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание суммарного холестерина в плазме крови больной Б-ой, 29 лет.

Примечание: обозначения те же, что и на рис. 25.

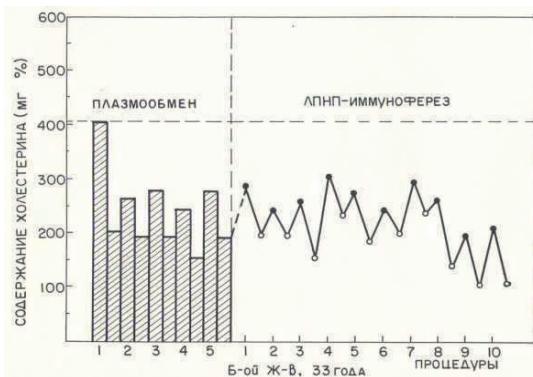


Рисунок 27. Влияние первых десяти процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание суммарного холестерина в плазме б-го Ж., 33 лет.

Примечание: обозначения те же, что и на рис. 25



Рисунок 28. Влияние первых десяти процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание холестерина в плазме крови б-й А., 54 лет.

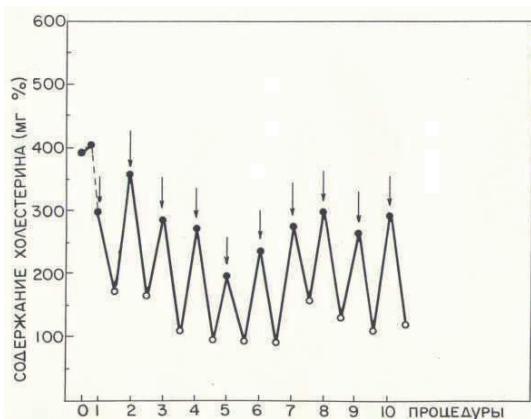


Рисунок 29. Влияние первых десяти процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание суммарного холестерина в плазме б-го Б., 39 лет. Стрелками указаны сроки выполнения процедур ЛПНП-иммунофереза.

Таблица 29

Влияние первых пяти процедур ЛПНП-иммunoфереза на содержание ХС-ЛПНП в крови (мг%) больных семейной ГХС

№ пп	Исход -ные показатели	После курса процеду р плазмо- обмена	Процедуры ЛПНП-иммunoфереза					
			1			2		
			до	после	%	до	после	%
1	369	158	179	107	-40	186	107	-42
2	414	195	206	129	-37	208	112	-46
3	453	260	260	128	-51	292	133	-54
4	332	—	252	137	-46	310	129	-58
5	340	189	206	157	-24	183	146	-20
			3			4		
1	369	158	178	99	-44	241	143	-40
2	414	195	188	92	-65	197	70	-65
3	453	260	332	159	52	285	161	-44
4	332	—	229	70	-69	216	60	-72
5	340	189	165	105	-36	230	190	-17

"До" - содержание ХС-ЛПНП непосредственно перед ЛПНП-иммunoфереза

"После" - содержание ХС-ЛПНП сразу же после процедуры ЛПНП-иммunoфереза

% - степень изменений изучаемого показателя в % по сравнению с исходной величиной

Таблица 30

Влияние первых пяти процедур ЛПНП-иммunoфереза на содержание ХС-ЛПВП в крови (мг%) больных семейной гиперхолестеринемией

№ п н и ч и и д	Ис ход но й пер ио д	Пос ле про цед ур пла змо - обм ена	Процедуры ЛПНП-иммunoфереза														
			1			2			3			4					
			до	пос ле	%	до	по сле	%	до	пос ле	%	до	пос ле	%			
1	44	43	36	33	-8,3	32	34	-6	40	38	-5	40	39	-3	37	32	-13
2	39	33	37	34	-8	37	34	-16	32	32	0	32	29	-9	27	27	0
3	24	33	26	31	-19	57	52	-12	44	43	-2	31	29	-6	35	36	3
4	25	-	25	23	-8	31	28	-10	25	28	-12	29	28	-3	27	28	4
5	31	31	40	39	-2,5	40	37	-7	46	41	-11	40	40	0	35	35	0

"До" - содержание ХС-ЛПВП непосредственно перед ЛПНП-иммunoфереза

"После" - содержание ХС-ЛПВП сразу же после процедуры ЛПНП-иммunoфереза

% - степень изменений изучаемого показателя в % по сравнению с исходной величиной

Изучение содержания холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в динамике проводимого лечения позволило установить, что при выполнении каждой процедуры ЛПНП-иммunoфереза повторялся один и тот же феномен. На рис. 30 представлены данные о динамике изменений в содержании холестерина, на рис. 31 - ХС-ЛПНП и на рис. 32 - ХС-ЛПВП в период проведения 10 процедур ЛПНП-иммunoфереза у больной А., 54 лет с диагнозом: семейная ГХС.

Отчетливо видно, что после каждой процедуры концентрация холестерина в крови резко снижалась (на 28%-43% от исходного уровня), а затем постепенно восстанавливалась. Одновременно со снижением уровня содержания холестерина в крови, каждая из проведенных процедур ЛПНП-иммunoфереза вызывала и резкое уменьшение уровня ХС-ЛПНП (в среднем на 44,4% от исходного уровня). В то же время содержание ХС-ЛПВП после проведения каждой из процедур ЛПНП-иммunoфереза значительно не отличалось от исходного уровня.

ЛПНП-иммunoферез является более селективной процедурой для удаления атерогенных классов липопротеидов, чем плазмообмен (см. рис. 30-32). Данные, представленные на диаграммах, показывают, что снижение содержания холестерина (рис. 30) под влиянием ЛПНП-иммunoфереза обусловлено преимущественно удалением ХС-ЛПНП (рис. 31). В отличие от плазмообмена, ЛПНП-иммunoферез практически не отражается на содержании ХС-ЛПВП в плазме крови больных семейной ГХС (рис. 32).

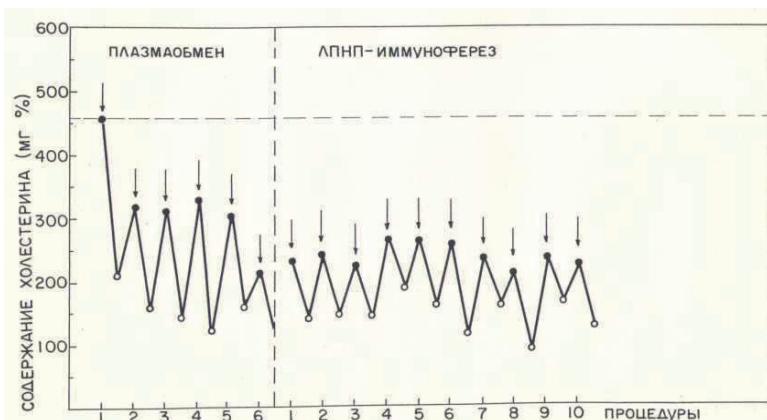


Рисунок 30. Влияние 10 процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание холестерина в плазме крови больной А., 54 лет (диагноз: "семейный ГХС").

Примечание: "Плазмообмен" - динамика изменений содержания ХС при применении 6 процедур плазмообмена (на подготовительном этапе). Стрелкой указаны сроки выполнения процедур

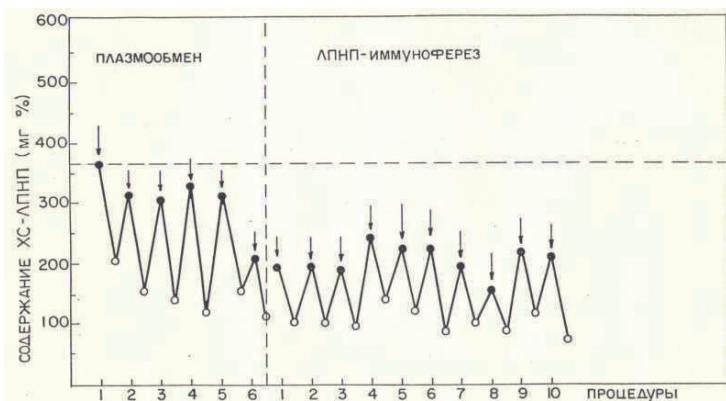


Рисунок 31. Влияние 10-ти процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание ХС-ЛПНП в плазме крови больной А-ой, 54 лет (диагноз: "семейная ГХС").

Примечание: "Плазмообмен" - динамика изменений содержания ХС-ЛПНП при проведении 6-ти процедур плазмообмена (на подготовительном этапе). Стрелкой указаны сроки выполнения процедур.

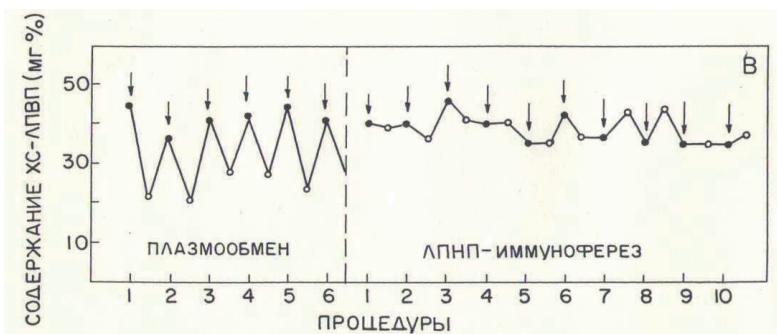


Рисунок 32. Влияние 10 процедур ЛПНП-иммунофереза на содержание ХС-ЛПВП в плазме больной А., 54 лет (диагноз: "семейная гиперхолестеринемия").

Примечание: "плазмообмен" - динамика изменений ХС-ЛПВП при применении 6 процедур плазмообмена (на подготовительном этапе).

Стрелкой указаны сроки выполнения процедур.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что под влиянием процедуры ЛПНП-иммunoфереза происходит снижение содержания холестерина и ЛПНП в плазме крови больных, страдающих семейной ГХС ПА типа. Они согласуются с сообщениями Stoffel et al. (1981; 1984; 1985), наблюдавшими аналогичный эффект ЛПНП-иммunoфереза при применении этого метода экстракорпоральной терапии у больных с гомозиготной и гетерозиготной формами семейной ГХС. Нами были подтверждены выводы Stoffel с соавторами о селективности ЛПНП-иммunoфереза в удалении атерогенных классов липопротеидов. Действительно, результаты, представленные выше, свидетельствуют о том, что процедура ЛПНП-иммunoфереза практически не отражается на показателе ХС-ЛПВП в крови больных семейной ГХС. Такие данные свидетельствуют о перспективности применения ЛПНП-иммunoфереза у больных семейной ГХС. С помощью этого метода, как показано ранее другими авторами (Stoffel et al., 1981-1985) и подтверждено результатами, представленными в настоящем разделе, можно селективно извлекать атерогенные классы липопротеидов из крови больных семейной ГХС, существенно не влияя на содержание липопротеидов высокой плотности.

5.1.2 Терапевтическая эффективность применения длительного курса многократных процедур ЛПНП-иммunoфереза у больных семейной гиперхолестеринемией

Для изучения результатов длительного применения ЛПНП-иммunoфереза производили сравнение показателей, отражающих содержание холестерина, триглицеридов, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП у 5 больных с семейной гиперхолестеринемией при поступлении в клинику и аналогичных величин, измеренных в конце курса этих процедур. Для оценки лечебного действия ЛПНП-иммunoфереза

сравнивали также данные, отражающие клиническое состояние больных до и после длительного применения процедур, а также содержание общего белка и его фракций, концентрацию электролитов и иммуноглобулинов А, G и М в указанные сроки.

В табл.31 отражены данные о липидном составе крови у больных семейной ГХС до и после длительного применения ЛПНП-иммunoфереза. Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что в результате лечения ЛПНП-иммunoферезом в течение 12-24 месяцев с интервалом 7-14 дней происходит выраженное снижение содержания суммарного холестерина (на 34-51%) и ХС-ЛПНП (на 37-60%). Одновременно отмечается тенденция к увеличению содержания ХС-ЛПВП и возрастание показателя ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП на 100-200%.

Лечебный эффект длительного применения ЛПНП-иммunoфереза отчетливо иллюстрируется на графиках (рис. 33-37), где изменения показателей холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП выражены в % по отношению к исходным величинам (100%).

На рис. 38 представлена динамика снижения уровня содержания суммарного холестерина и холестерина, входящего в состав ЛПНП и ЛПВП в плазме крови больной Б., 29 лет, с диагнозом: "семейная ГХС", которой на протяжении 24 мес. было произведено 80 процедур ЛПНП-иммunoфереза. Можно видеть, что содержание холестерина, снизившейся на 39,9% в сравнении с исходной величиной под влиянием процедур плазмообмена (предварительный этап), непосредственно перед назначением ЛПНП-иммunoфереза несколько возрос. В течение первых двух месяцев применения ЛПНП-иммunoфереза (8 процедур) уровень холестерина вновь снизился и стал равным 373 мг%.

Таблица 31

Изменения липидного и липопротеидного состава плазмы крови у больных семейной ГХС под влиянием курса процедур ЛПНП-иммunoфереза

№	Ко д п- л- в о- пр оц ед ур	Д ли- т- но- ст- ь ле- че	Показатели (мг%)														
			холестерин			триглицериды			ХС-ЛПНП			ХС-ЛПВП			ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП		
			до	пос	%	до	пос	%	до	пос	%	до	по	%	до	пос	%
1	55	16	47 8	314	-34	125	31	-75	414	261	-37	39	47	+21	0,09	0,18	100
2	43	12	39 1	248	-37	170	67	-61	332	201	-39	25	34	+36	0,08	0,17	113
3	40	17	41 0	201	-51	195	157	-19	340	133	-60	31	36	+16	0,09	0,27	200
4	80	24	52 8	314	-41	255	184	-28	453	241	-47	24	36	+50	0,05	0,15	200
5	45	18	45 4	256	-44	201	77	-62	369	194	-47	44	47	+7	0,12	0,24	100

Примечание: а - до лечения, б - после лечения

% - изменения изучаемых показателей после лечения в % к исходным величинам

В течение последующих процедур содержание холестерина продолжало оставаться на более низком, чем до начала лечения, уровне. У этой же больной (Б., 29 лет) отмечалось также довольно резкое уменьшение содержания ХС-ЛПНП после курса плазмообмена (на 40%) под влиянием ЛПНП-иммунофереза отмечалась последующая стабилизация этого показателя на более низком, чем в исходном периоде уровне. В то же время показатели ХС-ЛПВП уже под влиянием курса процедур плазмообмена у этой больной возрастали (рис. 33). Уже после первых 8 процедур ЛПНП-иммунофереза (2 мес. от начала лечения) и к периоду оценки результатов лечения (8-80 процедуры, 2-24 мес. от начала лечения) содержание ХС-ЛПВП в крови превышало исходную величину (рис. 33).

Аналогичная закономерность (снижение содержания холестерина и ХС-ЛПНП с одновременным возрастанием ХС-ЛПВП) отмечалась на протяжении курса лечебных процедур ЛПНП-иммунофереза и у остальных 4-х больных семейной ГХС, вошедших в группу обследованных (рис. 34-48).

Тенденция к нормализации показателей липидного и липопротеидного состава крови, происходящая на фоне применения ЛПНП-иммунофереза, сопровождалась улучшением клинического состояния больных семейной ГХС. Так, число приступов стенокардии под влиянием курса проведенного лечения значительно уменьшилось. Изменилась и интенсивность этих приступов,, что проявилось в уменьшении числа таблеток нитроглицерина, необходимых для купирования загрудинных болей (табл.32).

Под влиянием длительного курса ЛПНП-иммунофереза больные начали выполнять больший объем физической нагрузки. У б-ного Е-ва, 33 лет и больной Б-й, 29 лет уменьшился функциональный класс стенокардии. По данным велоэргометрии у

больного Е-ва возросла толерантность к физической нагрузке.

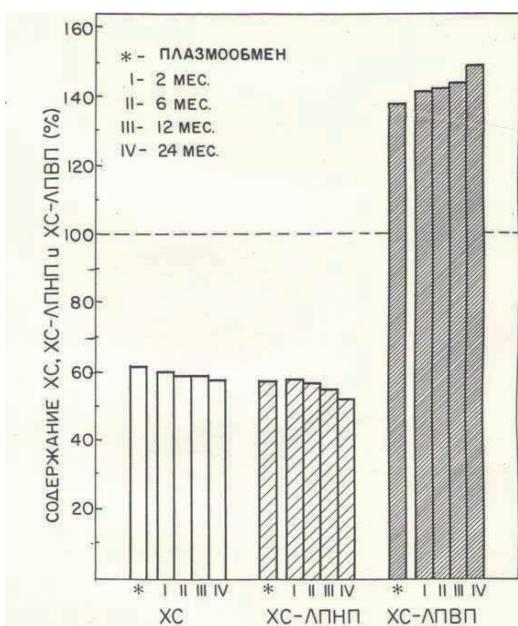


Рисунок 33. Динамика показателей уровня суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме крови больной Б., 29 лет (диагноз: семейная ГХС) под влиянием курса ЛПНП иммunoфереза .

Примечание: * - плазмообмен.

Здесь и на рис. 34-37 данные представлены в виде процентного отношения изучаемых показателей (ХС, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП) к исходным величинам (до назначения процедур плазмообмена и ЛПНП иммunoфереза, контроль - 100%).

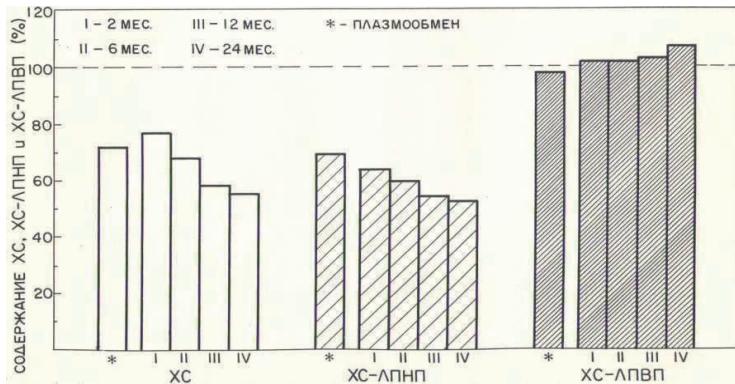


Рисунок 34. Динамика показателей уровня суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме крови больной А., 54 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммunoфереза.

Примечание: * - плазмообмен подготовительный этап".

Обозначения те же, что и на рис. 33

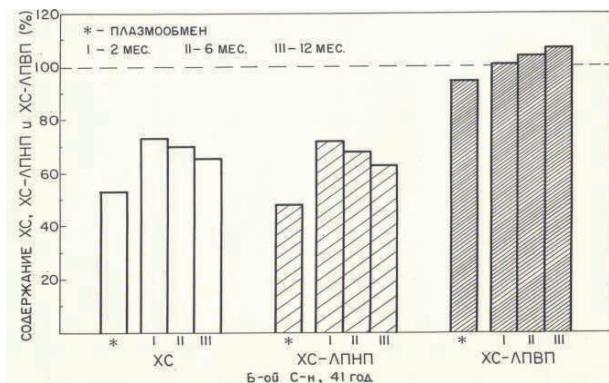


Рисунок 35. Динамика показателей уровня суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме б-го С., 41 лет (диагноз - семейная ГХС).

Примечание: * - плазмообмен - подготовительный этап.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 34.

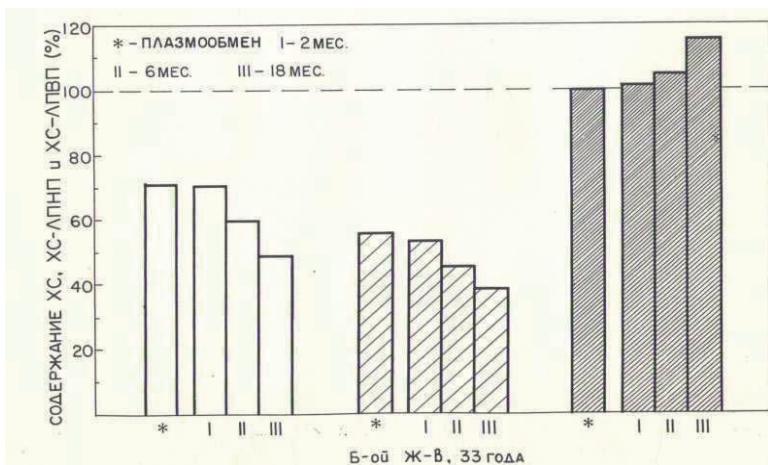


Рис. 36. Динамика показателей уровня суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме б-го Ж., 33 лет (диагноз - семейная ГХС).
 Примечания: % плазмообмен - подготовительный этап.
 Остальные обозначения те же, что и на рис. 35.

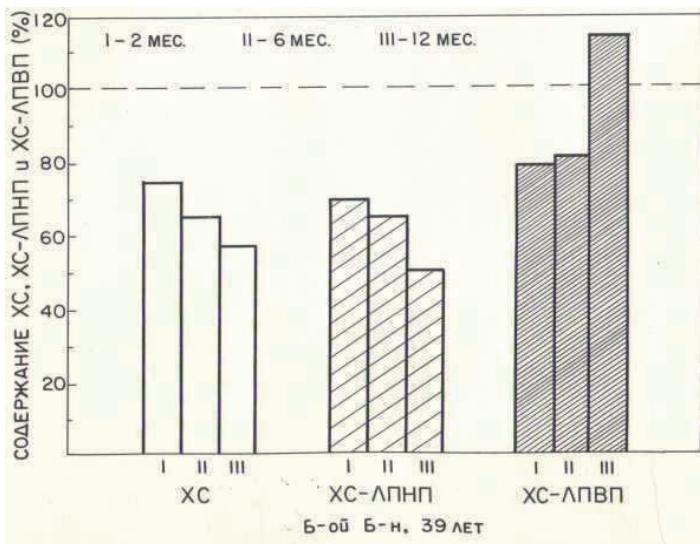


Рисунок 37. Динамика показателей уровня суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме больного Б., 39 лет (диагноз - семейная ГХС).
 Примечание: обозначения те же, что и на рис. 36.



Рисунок 38. Динамика содержания суммарного холестерина в плазме крови больной А., 54 лет (диагноз: "семейная ГХС) под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза. Точками обозначены показатели холестерина перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" –плазмообмена - показатели уровня холестерина при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа



Рисунок 39. Динамика содержания суммарного холестерина в плазме крови больной Б., 29 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза. Точкими обозначены показатели холестерина перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После"-плазмообмена - показатели уровня холестерина при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа".



Рисунок 40. Динамика содержания суммарного холестерина в плазме крови больного С., 41 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза. Точками обозначены показатели холестерина перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После"-плазмообмена показатели уровня холестерина при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа".



Рисунок 41. Динамика содержания ХС-ЛПНП в плазме крови больной А., 54 лет (диагноз: "семейная ГХС") во время курса лечебных процедур ЛПНП-иммунофереза. Точки обозначены показатели ХС-ЛПНП перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" – плазмообмена – показатели уровня при поступлении в клинику и в конце подготовительного этапа.



Рисунок 42. Динамика содержания ХС-ЛПНП в плазме крови больного С., 41 лет (диагноз: "семейная ГХС") во время курса лечебных процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" – плазмообмена – показатели уровня при поступлении в клинику и в конце подготовительного этапа.



Рисунок 43. Динамика содержания ХС-ЛПНП в плазме крови больной Б., 29 лет (диагноз: "семейная ГХС") во время курса лечебных процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" - плазмообмена - показатели уровня при поступлении в клинику и в конце подготовительного этапа.



Рисунок 44. Динамика содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больной А., 54 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза.

Точками обозначены показатели ХС-ЛПВП перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" - плазмообмена - показатели уровня ХС-ЛПВП при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа".



Рисунок 45. Динамика содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больного Б., 39 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммunoфереза.

Точками обозначены показатели ХС-ЛПВП перед каждой из процедур ЛПНП-иммunoфереза



Рисунок 46. Динамика содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больного Ж., 33 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммunoфереза.

Точками обозначены показатели ХС-ЛПВП перед каждой из процедур ЛПНП-иммunoфереза; столбиками "До" и "После" - плазмообмена - показатели уровня ХС-ЛПВП при поступлении в клинику и конце "подготовительного этапа".



Рисунок 47. Динамика содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больного С., 41 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза.

Точками обозначены показатели ХС-ЛПВП перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" - плазмообмена - показатели уровня ХС-ЛПВП при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа".



Рисунок 48. Динамика содержания ХС-ЛПВП в плазме крови больной Б., 29 лет (диагноз: "семейная ГХС") под влиянием курса ЛПНП-иммунофереза.

Точками обозначены показатели ХС-ЛПВП перед каждой из процедур ЛПНП-иммунофереза; столбиками "До" и "После" - плазмообмена - показатели уровня ХС-ЛПВП при поступлении в клинику и в конце "подготовительного этапа".

Таблица 32

Динамика показателей клинического состояния больных семейной ГХС под влиянием курса лечебных процедур ЛПНП-иммунофереза

Ф.И.О больного	Показатели							
	Приступы стенокардии число/оут)		Количе-ство таблеток нитрогли-церина (табл/день)		Артериальное давление		Число сердечных сокращений	
	до	после	до	после	до	после	до	пос-ле
А-ва	2-3	2-3	2-3	2-3	110/60	110/70	98	78
С-н	2-3	0-2	2-3	0-2	120/80	120/80	68	72
Б-н	ИБС б/б	ИБС б/б	—	—	110/60	110/70	78	78
Ж-в	2-3	0-1	2-3	0-1	120/70	120/70	85	84
Б-а	5-10	2-5	5-10	2-5	140/80	110/70	100	84
Данные ВЭМ							Стенокардия (функциональный класс)	
проба	мощность пороговой нагрузки (кг/м)	толерантность к физической нагрузке						
до	после	до	после	до	пос-ле	до	после	
поло- жит.	поло-жит.	450	450	низкая	низ-кая	III	III	
полож	полож	600	600	среди	средн	II	II	
отриц	отриц	750	900	высок	высок	—	—	
полож	полож	600	900	средн	высок	II	I	
полож	полож	300	300	низк	низк	IV	III	

Тяжелых осложнений за время проведения курса лечебных процедур ЛПНП-иммunoфереза мы не наблюдали. Не отмечалось также аллергической реакции на колонки. Ни у одного из 5-ти больных, подвергавшихся воздействию ЛПНП-иммunoфереза, не развился ни гепатит, ни какое-либо другое заболевание, которое передается при контакте с кровью или ее продуктами.

В предыдущей главе нами были представлены данные о том, что при длительном применении ЛПНП-иммunoфереза не происходит снижения содержания или изменения функциональных свойств тромбоцитов.

На основании изучения способности к адгезии и агрегации тромбоцитов, полученных из крови больных семейной ГХС до и по окончании процедуры ЛПНП-иммunoфереза, было сделано заключение о том, что изменения функционального состояния кровяных пластинок носят преходящий характер и быстро восстанавливаются к моменту проведения следующей процедуры.

В целом представленные в настоящем разделе данные свидетельствуют о том, что ЛПНП-иммunoферез представляет собой селективный метод, позволяющий избирательно удалять из крови больных семейной гиперхолестеринемией только атерогенные классы липопротеидов. Это и является существенным отличием ЛПНП-иммunoфереза от плазмообмена, при котором одновременно со снижением содержания ЛПНП, во время каждой процедуры происходит также и удаление ЛПВП.

Результаты проведенного нами исследования показали, что однократные процедуры ЛПНП-иммunoфереза позволяют селективно удалять атерогенные классы липопротеидов (ЛПНП и ЛПОНП), не влияя существенно на содержание ХС-ЛПНП в плазме крови больных семейной гиперхолестеринемией. Более того, анализ данных, полученных в ходе длительного (в течение 12-18 месяцев)

применения процедур ЛПНП-иммunoфереза показал, что в сравнении с исходным состоянием уровень содержания холестерина в крови больных семейной ГХС уменьшился на 34-51,1%, содержание ХС-ЛПНП - на 37-63%, а содержание ХС-ЛПВП - имело тенденцию к возрастанию. Одновременно отмечалось значительное улучшение клинического состояния больных семейной ГХС.

Полученные данные позволяют предположить, что под влиянием ЛПНП-иммunoфереза происходит задержка развития и даже регрессия уже имеющихся атеросклеротических изменений венечных артерий сердца у больных семейной ГХС. Подтверждением правомерности такого предположения являются данные, недавно представленные группами исследователей из ФРГ (Borberg et al., 1983) и из США (Parker et al., 1986). При сравнении контрольных (до начала процедур ЛПНП-иммunoфереза) и повторных (через 2-5 лет после курса лечения) коронарограмм цитируемые авторы наблюдали увеличение просвета ранее стенозированных венечных артерий сердца у больных семейной гиперхолестеринемией.

Эти данные позволяют предположить, что ЛПНП-иммunoферез, способствуя нормализации липидного обмена и метаболизма липопротеидов у больных семейной ГХС, оказывает опосредованный эффект и на процессы, развивающиеся в области атеросклеротических изменений в артериях. Для проверки такого предположения нами была произведена серия экспериментальных исследований, результаты которой представлены в следующем разделе настоящей главы.

5.2 ЛПНП-иммunoферез как способ резорбции отложений липидов в сосудистой стенке: экспериментальные доказательства

В предыдущем разделе главы были представлены данные о

том, что ЛПНП-иммуноферез является одним из наиболее перспективных методов лечения больных семейной ГХС. Показано, что с помощью данного метода можно добиться селективного удаления ЛПНП из плазмы крови и существенно улучшить клиническое состояние больных с этой наследственной аномалией. В последние годы получены данные о том, что при длительном применении ЛПНП-иммунофереза у больных семейной гиперхолестеринемией происходит увеличение просвета ранее стенозированных венечных артерий сердца (Borberg et al., 1983; Stoffel et al., 1986; Parker et al., 1986).

Такие данные позволяют предположить, что применение ЛПНП-иммунофереза способствует снижению скорости развития новых и/или приводит к регрессии уже сформировавшихся атеросклеротических поражений.

Действительно, считается общепризнанным, что основным источником липидов, накапливающихся в интиме артерий при атеросклерозе, являются ЛПНП, циркулирующие в крови (Smith, 1974; Schonfeld, 1979; Mahley, 1981). Уровень ЛПНП в крови прямо коррелирует с абсолютным содержанием ЛПНП в атеросклеротической бляшке и скоростью их накопления в интиме артерий.

Не исключено, что удаляя "избыток" циркулирующих ЛПНП с помощью иммунофереза, можно ожидать резорбции уже сформировавшихся отложений липидов в сосудистой стенке.

Мы решили изучить правомерность такого предположения, используя короткоживущие органные культуры атеросклеротически измененной интимы аорты человека и первичные культуры клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки. В экспериментах использовали органную культуру и первичные культуры клеток, выделенных из интимы аорты человека и культивируемых по методу,

описанному выше (см.раздел "Материал и методы").

Для моделирования ЛПНП-иммунофереза полученную культуру клеток подключали к перфузационной системе с колонкой (12x35 мм), содержащей моноспецифические поликлональные антитела против ЛПНП человека, ковалентно связанные с агарозой (рис. 49).

Селективное удаление ЛПНП из культуральной среды осуществляли путем пропускания среды через колонку, содержащую иммуносорбент, со скоростью 10 мл/час. В качестве контроля использовали колонку, заполненную агарозой, с иммобилизованным бычьим сывороточным альбумином (БСА) ("Sigma", США).

Эксперименты по изучению влияния ЛПНП-иммунофереза на содержание липидов в культуре проводили в двух модификациях.

Первая заключалась в том, что ЛПНП из культуральной жидкости удаляли постоянно путем непосредственного подключения органной культуры аорты к перфузационной системе, изображенной на рис. 49. Перфузию культуральной жидкости (12 мл) проводили в течение 16 часов, затем от системы перфузии отключали колонку, а ткань культивировали еще 12 часов.

При второй модификации среду, предназначенную для культивирования, пропускали через колонку, содержащую анти-ЛПНП-агарозу или агарозу с иммобилизованным бычьим сывороточным альбумином (БСА) (контроль), а затем эту среду добавляли к органной или клеточной культуре. Культивирование проводили в течение 48 часов, заменяя среду каждые 24 часа.

Липиды экстрагировали смесью хлороформ метанол, разделяли на классы тонкослойной хроматографией и определяли их концентрацию путем денситометрирования (см.главу "Материал и методы").

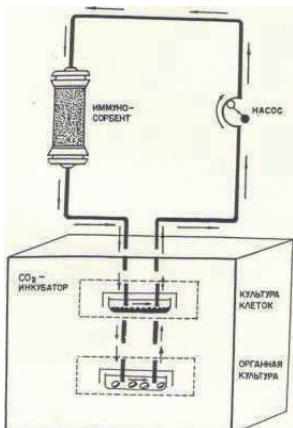


Рисунок 49. Схема ЛПНП-иммунофереза, *in vitro*

Данные ЛПНП-иммунофереза (первая модификация) на содержание липидов в органной культуре атеросклеротической бляшки представлены в табл.33. Видной, что перфузия культуральной среды через колонку, содержащую иммуносорбент, в течение 16 часов приводит к достоверному снижению в ткани атеросклеротической бляшки весовой концентрации: эфиров холестерина - на 45,8%, свободного холестерина - на 34,9% и триглицеридов - на 53,7% по сравнению с контролем.

При культивировании атеросклеротической бляшки в среде, предварительно подвергнутой ЛПНП-иммуноферезу (вторая модификация опыта) также наблюдалось уменьшение содержания изучаемых классов липидов в ткани атеросклеротической бляшки (рис. 50). Уровень свободного холестерина в опыте уменьшался на 38,2%, триглицеридов - на 30,2%, эфиров холестерина на 35,6% и фосфолипидов на 40,0% по сравнению с контролем.

В то же время селективное удаление ЛПНП из культуральной среды короткоживущей органной культуры макроскопически неизмененных участков аорты человека практически не приводило к

какими либо существенным изменениям содержания тканевых липидов (рис. 50).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что ЛПНП-иммуноферез приводит к значительному снижению основных классов липидов в пораженной атеросклерозом ткани аорты человека и практически не влияет на их концентрацию в нормальных участках сосудов.

Хорошо известно, что липиды, содержащиеся в атеросклеротической бляшке, располагаются как внутриклеточно, так и в экстрацеллюлярном пространстве (Geer, Haust, 1972; Smith, 1976 и др.). В связи с этим использование органной культуры не позволяет ответить на вопрос о локализации липидов, подверженных действию ЛПНП-иммунофереза. Для выяснения этого вопроса нами были проведены эксперименты по изучению влияния ЛПНП-иммунофереза на содержание липидов в первичных культурах клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека. Результаты этих опытов представлены в табл.34. Клетки культивировали в течение 6 дней в среде, содержащей 10% раствор фетальной телячьей сыворотки. На 7-й день инкубации культуры промывали средой без сыворотки, и дальнейшее культивирование проводили в среде, пропущенной через колонку с БСА-агарозой (контроль) или анти-ЛПНП-агарозой (опыт). Среду меняли через каждые 24 часа. Полученные данные (см.табл.34) свидетельствуют о том, что ЛПНП-иммуноферез практически не приводит к достоверному снижению содержания липидов свободного холестерина, триглицеридов и фосфолипидов) в клетках, культивируемых из атеросклеротической бляшки аорты человека.

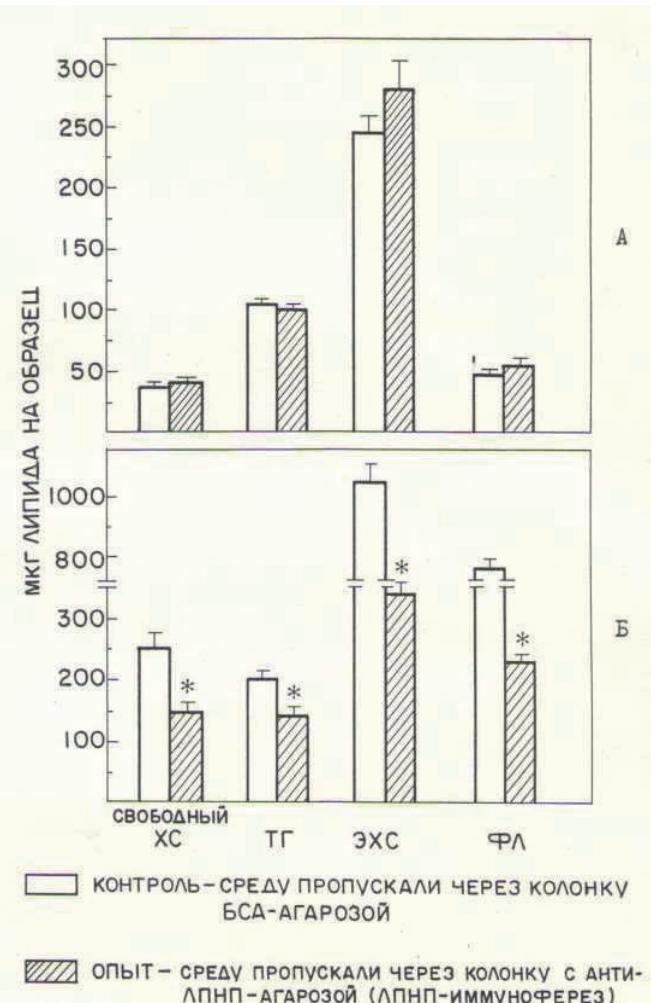


Рисунок 50. Влияние ЛПНП-иммунофереза на содержание различных классов липидов в органной культуре внешне непораженных участков аорты человека (А) и атеросклеротической бляшки (Б).

* P<0,05.

Таблица 33

Влияние ЛПНП-иммунофереза на содержание различных классов липидов в органной культуре атеросклеротической бляшки аорты человека

Тип сорбента, используемого системе перфузии	Эфиры холестерина	Содержание липидов, мкГ на образец		
		Свободный холестерин	Триглицериды	Фосфолипиды
БСА-агароза	591±70,44	246±49,1	108±21,3	334±82,5
Анти-ЛНП-агароза	320±84,6 ^X	160±34,4 ^X	50±1,2 ^X	301±105,3

^X - обозначает достоверность различий ($p<0,05$) по сравнению с БСА-агарозой. Представлены средние значения и стандартное математическое отклонение ($M\pm m$) показателей, отражающих по 4 измерения на 12 аортах

Сравнительный анализ данных по изучению влияния ЛПНП-иммунофереза на содержание липидов в короткоживущей органной культуре и первичной культуре клеток атеросклеротической аорты человека позволяет сделать предположение, что уменьшение содержания свободного холестерина, триглицеридов, фосфолипидов, а также эфиров холестерина обусловлено преимущественным снижением концентрации липидов, расположенных во внеклеточном пространстве.

Как известно, одним из наиболее ярких проявлений атеросклероза является локальное накопление избыточного количества липидов в интиме артерий (Geer, Haust, 1972; Haust, 1984). Считается общепризнанным, что основным поставщиком

липидов, откладывающихся в зоне атеросклеротического поражения, является -ЛПНП (Chen, Fischer-Draga, 1977; Wissler, 1979; Pearson, 1976).

Таблица 34

Влияние ЛПНП-иммunoфереза на содержание различных классов липидов в клетках, культивируемых из атеросклеротической бляшки аорты человека

Тип сорбента, используемого в системе перфузии	Время инкубации клеток со средой, пропущенной через сорбент (дни)	Число независимых опытов	Содержание липидов, мкг на 10^5 клеток			
			Эфиры холестерина	свободный холестерин	Триглицериды	Фосфолипиды
БСА-агароза	2	6	340±19	47±3	217±25	30±12
			229±33 ^X	37±7	157±22	27±10
БСА-агароза	7	3	353±28	37±3	263±38	35±5
			188±27 ^X	25±4	220±54	30±11

^X) p<0,05 - достоверность различий по сравнению с контролем

Полученные нами данные указывают на то, что ЛПНП-иммunoферез может вызвать регрессию такого проявления атеросклероза как липоидоз. Учитывая то, что повышенное содержание ЛПНП в крови является фактором риска атеросклероза, легко представить себе, что снижение ЛПНП является профилактическим мероприятием, направленным на предотвращение возникновения новых атеросклеротических бляшек или способствующим блокированию развития уже существующих

поражений. Тот факт, что ЛПНП-иммуноферез способен вызывать именно регрессию некоторых проявлений атеросклероза, до сих пор не был столь очевидным.

Остается неясным механизм, лежащий в основе снижения липидов в пораженной ткани, вызываемого уменьшением содержания ЛПНП в окружающей среде. Можно предположить, что между содержанием липидов в бляшке и в окружающей среде существует динамическое равновесие. Сдвигая это равновесие в сторону уменьшения содержания липидов в среде, мы, возможно, способствуем оттоку избыточных липидов из бляшки. Нам неизвестно, в каком виде липиды покидают бляшку, переходя в среду. Возможно, высвобождающиеся липиды имеют ЛПНП-подобную структуру. Если липиды высвобождаются в форме ЛПНП-подобных частиц, можно понять, почему постоянное удаление ЛПНП из среды эффективнее освобождает бляшку от липидов, чем однократное.

По-видимому, кроме выдвинутого нами объяснения полученных эффектов могут быть и другие, однако экспериментальных данных пока явно недостаточно для того, чтобы строить серьезную концепцию о механизмах регрессии липоидоза, вызванного ЛПНП-иммуноферезом.

В настоящее время техника ЛПНП-иммунофереза успешно развивается: на мини-свиньях (Stoffel et al., 1981a) и пациентах с семейной ГХС (Stoffel et al., 1981b; Borberg et al., 1983; 1986; Parker et al., 1986) получены обнадеживающие данные, свидетельствующие о том, что ЛПНП-иммуноферез существенно снижает содержание циркулирующих ЛПНП. Показано, что одновременно с уменьшением уровня ЛПНП в крови под влиянием длительного курса применения ЛПНП-иммунофереза значительно улучшается клиническое состояние больных семейной гиперхолестеринемией

(Stoffel et al 1981-1986; Borberg et al., 1983;1986). В процессе лечения у больных реже появляются симптомы стенокардии и возрастает толерантность к физическим нагрузкам, что, по-видимому, обусловлено увеличением просвета ранее стенозированных венечных артерий сердца (Borberg, 1986; Stoffel et al., 1986; Parker et al., 1986). Предполагают, что под влиянием курса процедур ЛПНП-иммunoфереза происходит регрессия атеросклеротических изменений в венечных артериях сердца. Принимая во внимание данные, представленные в настоящем разделе, свидетельствующие о резорбции липидов в ткани атеросклеротической бляшки под влиянием ЛПНП-иммunoфереза, можно надеяться, что эта процедура окажется полезной в терапии тяжелых случаев семейной ГХС, сопровождающейся выраженными атеросклеротическими изменениями артерий. Предположение о том, что применение ЛПНП-иммunoфереза сопровождается регрессией атеросклеротических изменений, получило в наших исследованиях новые экспериментальные доказательства.

Таким образом, данные, представленные в настоящей главе, могут служить клинико-экспериментальным обоснованием целесообразности использования ЛПНП-иммunoфереза в комплексном лечении больных с семейной гиперхолестеринемией ПА типа. Установлено, что во время каждой процедуры ЛПНП-иммunoфереза происходит резкое снижение (на 35-40%) содержания суммарного холестерина. При этом, в отличие от плазмообмена, ЛПНП-иммunoферез позволяет селективно удалять только атерогенные классы липопротеидов. Действительно, изучение динамики изменения содержания ХС-ЛПНП показало, что этот показатель после проведения процедуры ЛПНП-иммunoфереза

снижается на 24-67%. При этом содержание ХС-ЛПВП после ЛПНП-иммunoфереза остается практически на том же уровне, что и до начала процедуры.

Проведенное исследование позволило также установить, что после длительного курса процедур ЛПНП-иммunoфереза происходит значительная нормализация показателей обмена липидов и липопротеидов. Так, отмечается выраженное снижение содержания суммарного холестерина в плазме крови больных семейной ГХС (на 34,1-50,9% в сравнении с исходными величинами). После многократных процедур ЛПНП-иммunoфереза происходит также и уменьшение содержания циркулирующих ЛПНП, о чем свидетельствует снижение содержания ХСЛПНП (на 36,8±59,8%) в крови больных семейной ГХС. Одновременно при длительном курсе лечебных процедур ЛПНП-иммunoфереза отмечается некоторое возрастание уровня содержания ХС-ЛПВП (на 6,7-49,6%) и довольно значительное увеличение показателя соотношения ХС-ЛПВП/ ХС-ЛПНП (на 100-200%).

Параллельно нормализации показателей липидного и липопротеидного состава крови у больных семейной ГХС, применение курса процедур ЛПНП-иммunoфереза способствует улучшению их клинического состояния. У пациентов уменьшается число приступов стенокардии и они становятся менее выраженным, нормализуются показатели артериального давления и частоты сердечных сокращений и возрастает объем физической нагрузки. Такие данные позволяют согласиться с выводами Stoffel et al. (1983; 1986) и Borberg et al. (1986) о том, что лечебный эффект ЛПНП-иммunoфереза обусловлен, наряду с нормализацией липидного обмена, задержкой развития новых и, возможно, регрессией уже тлеющихся атеросклеротических изменений в артериях.

В ходе изучения терапевтического действия ЛПНП-

иммunoфереза в экспериментах с использованием клеточных моделей и органных культур нами были получены данные, свидетельствующие об антиатеросклеротическом эффекте этого метода лечения. Было установлено, что применение ЛПНП-иммunoфереза способствует резорбции липидных отложений в ткани атеросклеротической бляшки человека. Так, ЛПНП-иммunoферез вызывал снижение содержания липидов всех классов в культивируемой атеросклеротической бляшке.

Такие данные позволяют заключить, что ЛПНП-иммunoферез, способствуя нормализации обмена липопротеидов у больных семейной гиперхолестеринемией, является, одновременно, и лечебным мероприятием, направленным на ускорение процессов обратного развития атеросклеротических изменений в артериях.

Глава 6. ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ АФЕРЕЗА АТЕРОГЕННОГО ФАКТОРА У БОЛЬНЫХ С АНГИОГРАФИЧЕСКИ ДОКУМЕНТИРОВАННЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Как следует из приведенных выше данных литературы, в крови больных с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца присутствует фактор атерогенности нелипидной природы, обуславливающий способность ЛПНП вызывать накопление липидов в культивируемых клетках интимы аорты человека (Chazov et al., 1986; Orekhov et al., 1986).

Было установлено, что фактор способен взаимодействовать с ЛПНП и что при перфузии через сорбент с иммобилизованными ЛПНП атерогенная плазма теряет способность вызывать накопление холестерина культивируемыми клетками (Orekhov et al., 1987). Для удаления фактора атерогенности из крови пациентов было решено применить колонку с аутологичными ЛПНП, иммобилизованиями на сефарозе (Покровский и соавт., 1986), включенную в систему экстракорпорального кровообращения.

В настоящее время процедура удаления фактора атерогенности применена у 4-х больных, страдающих ишемической болезнью сердца с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца. В этой главе представлены данные о терапевтической эффективности применения данного метода экстракорпоральной терапии у больных ишемической болезнью сердца.

6.1. Показания к применению процедуры афереза атерогенного фактора

Для изучения информативности различных критериев, которые могут быть использованы при назначении метода афереза

атерогенного фактора было произведено исследование, результаты которого представлены ниже.

Испытанию была подвергнута кровь 97 практически здоровых лиц без признаков сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте 20-55 лет. Вторую группу составляли 156 пациентов с ишемической болезнью сердца 2-4 функциональных классов (согласно канадской классификации), у которых методом селективной коронарографии были обнаружены стенотические изменения 1-3 магистральных коронарных артерий на 75% и более; всего в этой группе было 138 мужчин и 18 женщин в возрасте 28-56 лет. Третью группу составляли 12 больных со стенокардией, у которых ангиографически не было обнаружено органических изменений в коронарных артериях.

О наличии и степени выраженности атерогенности сывороток судили по изучению содержания холестерина в клетках интимы аорты человека при добавлении сывороток больных в культуральную среду. Контролем явились данные о содержании холестерина в клетках при добавлении 40% делипидированной сыворотки здоровых лиц.

Основываясь на результатах изучения концентрационной и временной зависимости действия сывороток на содержание внутриклеточного холестерина (Orekhov et. al., 1987), мы использовали 40% сыворотку и изучали показатели накопления холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека через 24 часа после добавления сыворотки в культуральную среду.

Способность 40% сыворотки вызывать более чем двукратное (по сравнению с контролем) увеличение содержания холестерина в культивируемых интимальных клетках аорты человека за 24 часа инкубации была названа "атерогенностью" (Chazov et al., 1986). Далее для краткости мы будем использовать термин "атерогенность" именно в этом значении.

Представляло интерес установить, насколько характерно свойство атерогенности для сывороток, полученных из крови больных ИБС. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 51.

Данные диаграммы свидетельствуют о том, что сыворотка большинства здоровых лиц (75 человек, 77,4% от всех изученных), не обладает атерогенностью. У незначительного числа обследованных в этой группе (22 человека, 22,6% от всех изученных) сыворотка, добавленная в культуральную среду, вызывала 1,5-2,5-кратное накопление холестерина в клетках. Атерогенность не была характерной и для сывороток, полученных из крови больных стенокардией без ангиографических признаков атеросклероза венечных артерий сердца.

С другой стороны, сыворотки преимущественного большинства больных с ангиографически документированным атеросклерозом (133 человека, 85,2% от всех изученных) вызывали 3-5-кратное увеличение содержания холестерина в культивируемых клетках. Лишь немногие из сывороток, полученные из крови больных ИБС (23 человека, 14,8% от всех изученных в этой группе) не обладали атерогенностью.

Полученные данные в целом согласуются с ранее опубликованными нами данными о том, что для сывороток больных с ангиографически документированным (культивируемым в присутствии 40% делипидированной сывороткой здоровых доноров) атероскллерозом, в отличие от здоровых лиц характерным является их способность индуцировать накопление избыточного количества холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека (Chazov et al., 1986). Такое заключение подтверждается и результатами, представленными на рис. 52. Видно, что при добавлении сыворотки большинства больных с коронарным

атеросклерозом (69 человек, 90,7% от общего числа изученных в этой серии) (76 чел.) происходило значительное увеличение содержания холестерина в культивируемых клетках. В то же время "атерогенные" свойства не были характерными для сывороток большинства здоровых лиц (33 человека, 78,5% от общего числа изученных в этой серии).



Рисунок 51. Соотношение лиц с наличием () и отсутствием (O) атерогенности сыворотки крови*

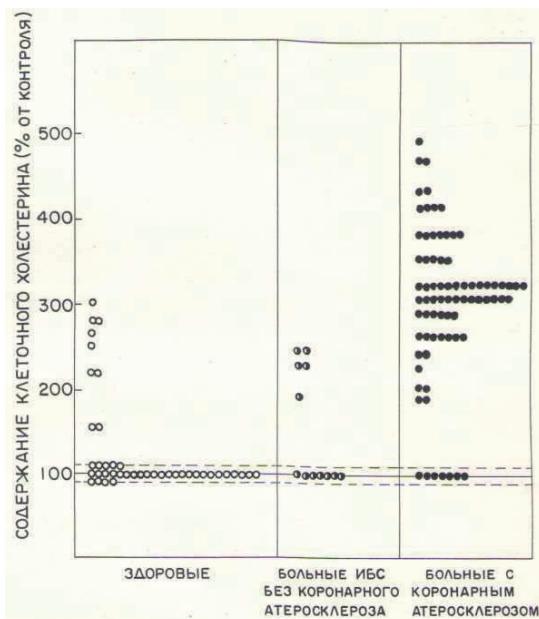


Рисунок 52. Содержание общего холестерина в клетках, культивируемых с сыворотками здоровых лиц, больных стенокардией и пациентов сangiографически документированным атеросклерозом венечных артерий. Клетки непораженной интимы аорты человека культивировали 24 часа с 40% сыворотками крови обследуемых лиц. За 100% принято содержание суммарного холестерина в контрольных клетках (культивируемых в присутствии 40% делипидированной сыворотки здоровых доноров).

Привлекает к себе внимание также тот факт, что при добавлении сывороток 55 больных увеличение содержания холестерина в культивируемых клетках составляло 280-420% от контроля и 3-х больных - около 500% от контроля.

В то же время сыворотки 4 здоровых лиц вызывали увеличение содержания холестерина лишь на 150-220% от контроля и 5 человек

на 250-300% от контроля. Столь выраженного влияния на содержание внутриклеточного холестерина, отмеченного нами при изучении действия сывороток больных (3-5-кратного увеличения) в группе здоровых лиц не было установлено ни в одном из изученных случаев.

Определенный интерес представляют и наблюдения, свидетельствующие о том, что у большинства больных с симптомами стенокардии, не обусловленными (как показало коронарографическое исследование) органическими поражениями венечных артерий сердца (7 человек, 58,3% от всех изученных). Сыворотки не обладали атерогенностью. У остальных пяти больных из этой группы сыворотки при их добавлении в культуру вызывали увеличение содержания холестерина в клетках на 195% (1 больной), на 225% (2 больных) и на 250% (2 больных).

Таким образом, проведенное исследование показало, что сыворотки большинства больных с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий способны вызывать накопление липидов в культивируемых клетках интимы. Однако степень выраженности атерогенности сывороток у этих больных была неодинаковой. Из изученных нами 76 больных с данной патологией сыворотка 7 больных не обладала атерогенностью, сыворотка 14 больных вызывала 1,5-2,5-кратное увеличение содержания внутриклеточного холестерина, сыворотка 46 больных индуцировала возрастание уровня холестерина на 280-350% и 9 больных - на 350-500%.

Эти данные свидетельствуют о том, что только у больных с ангиографически документированным атеросклерозом целесообразно применение метода афереза атерогенного фактора. При этом, по-видимому, данная процедура особенно показана тем больным, сыворотка которых при добавлении в культуру вызывает 3-

5-кратное увеличение содержания холестерина в клетках интимы аорты.

Результаты проведенного исследования указывают на необходимость обязательного изучения степени атерогенности сывороток при назначении больным ИБС процедуры афереза атерогенного фактора. Этот метод был применен нами в комплексном лечении 4 больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца. Критерием целесообразности назначения этим больным процедуры афереза атерогенного фактора явились результаты изучения способности сывороток этих больных вызывать накопление холестерина в клетках интимы аорты человека. В таблице 35 представлены данные о клинической характеристике больных ИБС, которым были назначены процедуры афереза атерогенного фактора.

Как видно из данных, представленных в табл.35, процедура афереза атерогенного фактора была назначена четырем больным мужского пола в возрасте от 46 до 59 лет. У них была диагностирована стенокардия II-го (один больной) и III-го (3 больных) функционального класса. По данным анамнеза у трех больных продолжительность заболевания составляла 8-12 месяцев, у одного больного более 10 лет. У всех четырех больных при ангиографическом исследовании обнаружен стенозирующий атеросклероз левой нижней и правой коронарной артерий. У 3-х больных атеросклеротические изменения наблюдались также и в огибающей артерии. До начала лечения у всех четырех пациентов проба с физической нагрузкой была положительной, толерантность к физической нагрузке составляла от 450 до 600 кгм/мин (была средней), а объем выполняемой работы составлял 2700 - 3300 кгм/мин.

Таблица 35

Клиническая характеристика больных, которым были назначены процедуры афереза фактора атерогенности

Ф.И.О. пациентов	Кор-в	Ней-г	Коз-в	Нес-в
Пол	м	м	м	м
Возраст (годы)	59	48	47	46
Стенокардия:				
функциональный класс	III	II	III	III
Продолжительность заболевания (мес.)	144	12	8	8
Стеноз коронарных артерий (%)				
левая нисходящая	50	75	95	85
огибающая	50	70	50	0
правая коронарная	85	90	75	85
Данные ВЭМ				
проба	полож	полож	полож	полож
толерантность (кг/м)	600	450	600	450
объем выполняемой	3300	2700	3300	2700
Липидный состав (мг%)				
холестерин (сумм)	255	220	225	227
ТГ	97	128	93	109
ХС-ЛПВП	47	32	47	22
ХС-ЛПНП	189	162	159	183
ХС-ЛПОНП	19	26	19	22
Атерогенность плазмы (% увеличения ХС в культуре)	314±18	362±41	329±16	348±32

По результатам биохимического обследования, показатели липидного и липопротеидного состава у всех 4-х больных находились в пределах колебаний возрастных нормативов, лишь у одного больного (Н-ков, 46 лет) до начала лечения имело место некоторое уменьшение содержания ХС-ЛПВП (22 мг%).

Как видно из данных, представленных в табл., сыворотка всех больных, которым были назначены процедуры афереза фактора атерогенности, вызывала значительное накопление холестерина в культивируемых клетках. Так, атерогенность сыворотки больного К-ва составляла в исходном периоде (по данным 3-х определений) в среднем $314 \pm 18\%$, больной Ней-га - $362 \pm 41\%$, больного Коз-ва $329 \pm 16\%$, больного Нес-ко - $348 \pm 32\%$.

Таким образом, эти данные явились основой для назначения этим четырем больным процедур афереза атерогенного фактора.

Было принято решение оценить влияние удаления фактора атерогенности на течение ИБС с помощью перфузии плазмы через колонки, содержащие аутологичные ЛПНП больного, иммобилизованные на сепарозе. Емкость колонок составляла 50-200 мл. Из локтевой вены больного забирали кровь, которую на клеточном сепараторе фракционировали на клетки и плазму. Последняя затем перфузировалась через колонку с ЛПНП со скоростью 30 мл/мин, при этом из плазмы удалялся фактор атерогенности. Затем плазму и форменные элементы возвращали больному. Для каждого больного была предусмотрена 1 колонка, имеющая соответствующую маркировку. Колонку использовали многократно. Перед использованием колонки проводили 3 процедуры плазмофереза в объеме 2000 мл. При этом определяли толерантность больного к экстракорпоральному кровообращению, проводили покрытие колонки отделяемой плазмой, оценивали эффективность колонки (клиренс фактора атерогенности), стерильность и апирогенность колонки. Перед использованием колонку отмывали от консервирующего раствора азida натрия физиологическим раствором. Время перфузии через колонку определялось в зависимости от нормализации концентрации фактора атерогенности в плазме, притекающей в колонку. Интервал между

процедурами афереза определяли по результатам мониторирования фактора атерогенности в течение 2-х недель.

Более подробно техника выполнения процедур афереза фактора атерогенности описана в гл.2 настоящей работы.

6.2. Терапевтическая эффективность афереза атерогенного фактора у больных ишемической болезнью сердца с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца

Прежде всего, было необходимо установить, с какой частотой следует применять процедуры афереза атерогенного фактора у больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца. С этой целью сразу же после выполнения процедуры, а также начиная со следующего дня после проведения методики афереза, ежедневно изучали способность 40% сывороток больных вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках неизмененной интимы аорты человека.

В табл. 36 и на рис. 52-55 представлены данные о влиянии первой процедуры (перфузия через колонку с иммобилизованными на сепарозе аутологичными ЛПНП) на показатели атерогенности сывороток, выделенных из крови 4-х больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий. Можно видеть, что у всех больных .в результате двухчасовой экстракорпоральной перфузии плазмы крови через колонку с аутологичными ЛПНП атерогенность резко падает (на 33,6% - 55,7% в сравнении с исходной (до процедуры) величиной). На следующий день после процедуры сыворотка, выделенная из крови этих больных, при добавлении ее в культуру не вызывает накопления холестерина в клетках интимы (атерогенность исчезает полностью). В последующие дни после процедуры показатели атерогенности сыворотки больных постепенно восстанавливаются, .и

через 7-15 дней достигают исходного уровня.

Повторная процедура, проведенная через неделю после первой, также приводит к резкому снижению показателей атерогенности (рис. 56-59). Следует отметить, что вторая и третья процедура снижают атерогенность на более длительный срок и поэтому необходимости в еженедельном проведении процедуры нет, так как атерогенность не успевает за неделю возрасти существенно. Проводя процедуру один раз в две-три недели, можно добиться того, что атерогенность плазмы больного в течение длительного времени будет находиться на довольно низком уровне (см. рис. 56-59).

Для изучения вопроса о том, отражается ли процедура афереза атерогенного фактора на показателях липидного и липопротеидного состава крови у больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий, мы изучали содержание холестерина, триглицеридов и ХС-ЛПВП в плазме крови до и непосредственно сразу же после экстракорпоральной перфузии через колонку с аутологичными ЛПНП. Соответствующие данные представлены в табл.37.

Можно видеть, что проведение процедуры афереза атерогенного фактора не изменяют большинства изученных показателей. Так, у всех обследованных больных показатели содержания суммарного холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП в плазме крови до и сразу же после проведения процедуры были одинаковыми. После выполнения процедуры отмечалось некоторое уменьшение содержания триглицеридов по сравнению с исходной (до процедуры) величиной. Однако к моменту выполнения следующей процедуры эти показатели достигали исходного (до начала курса процедур афереза атерогенного фактора) уровня.

Таблица 36

Влияние экстракорпоральной перфузии плазмы крови больных ИБС через колонку с аутологичными ЛПНП на показатели атерогенности сыворотки

Атерогенность сывороток											
до перфузии						сразу после перфузии					
258±17						144±11					
287±21						127±11					
287±17						139±17					
232±18						154±11					
дни после перфузии											
1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	15	
110±9	—		194±12	—	—	297±13	—	273±21			
143±15	192±13	190±18		253±21	—	245±18	—	—			
109±14	152±8	178±11	210±14	195±17	181±6	—					
125±7	106±12	166±16	147±18	—	—	182±8	169±6	—	170±14	270±21	

Атерогенность сывороток - % накопления холестерина в культуральных клетках неизмененной интимы при добавлении 40% сыворотки больного в сравнении с контролем (100%) контроль - содержание холестерина в клетках при добавлении 40% делипидированной сыворотки здоровых лиц.

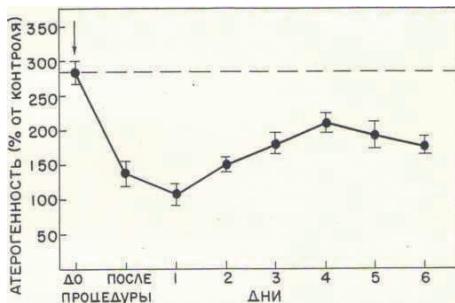


Рисунок 52. Влияние первой процедуры афереза фактора атерогенности на Способность сыворотки б-го К-ва (47 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках неизмененной интимы аорты человека.

100% - показатели накопления холестерина в культивируемых клетках при добавлении 40% делипидированной сыворотки здорового человека (контроль)

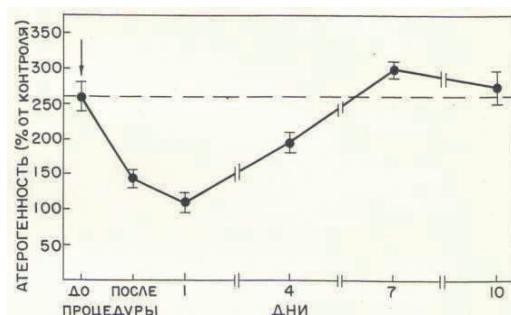


Рисунок 53. Влияние первой процедуры афереза фактора атерогенности на способность сыворотки больного Кор-ва (59 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках плазменной интимы аорты человека (в % к исходной величине).

Обозначения те же, что и на рис. 52.

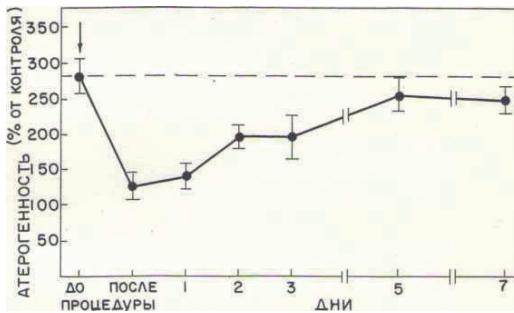


Рисунок 54. Влияние первой процедуры афереза фактора атерогенности на способность сыворотки б-го Н-га (48 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках неизмененной интимы аорты человека (в % к исходной величине).

Обозначения те же¹, что и на Рисунок 52

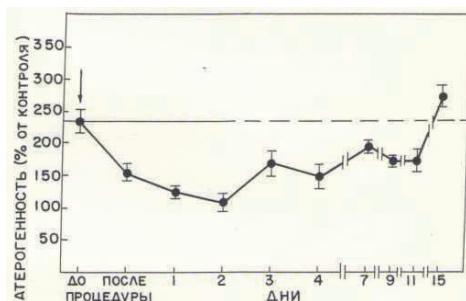


Рисунок 55. Влияние первой процедуры афереза фактора атерогенности на способность сыворотки больного Н-ов (46 лет. ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках неизмененной интимы аорты человека (в % к исходной величине).

Обозначения те же, что и на рис. 52

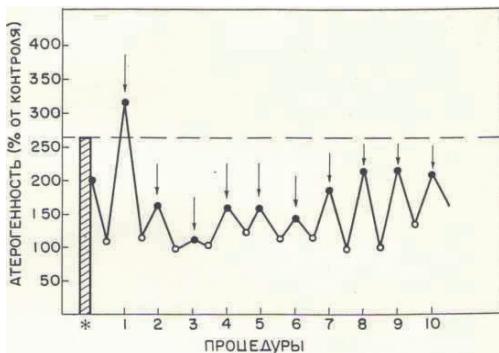


Рис. 56. Влияние десяти процедур афереза фактора атерогенности (указаны стрелками) на способность сыворотки больного Кор-ва (59 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека.

100% - показатели накопления холестерина в культивируемых клетках при добавлении 40% делипидированной сыворотки здорового человека (контроль).

* - показатели накопления холестерина в культивируемых клетках при добавлении 40% сыворотки крови больного до начала процедур.

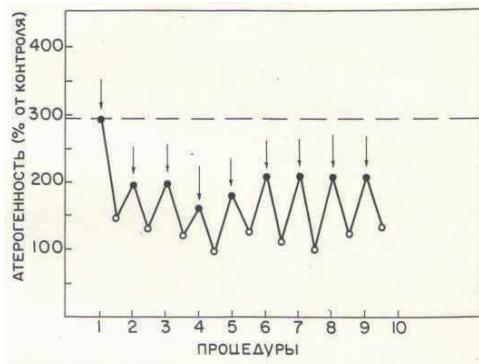


Рисунок 57. Влияние десяти процедур афереза фактора атерогенности (указаны стрелками) на способность сыворотки крови больного Коз-ва (47 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека.

Обозначения те же, что и на рис. 56

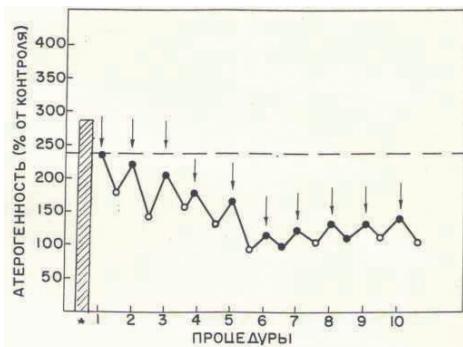


Рисунок 58. Влияние десяти процедур афереза фактора атерогенности (указаны стрелками) на способность сыворотки больного Н-г (48 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека.

Обозначения те же, что и на рис. 56

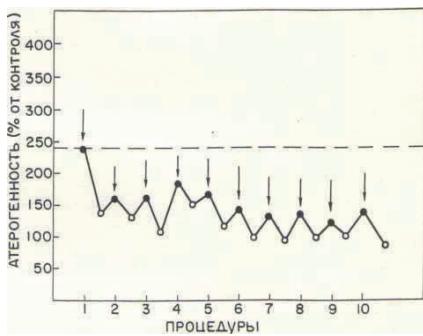


Рисунок 59. Влияние десяти процедур афереза атерогенного фактора (указаны стрелками) на способность сыворотки больного И-в (46 лет, ИБС) вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках аорты человека.

Обозначения те же, что и на рис. 56

Следует отметить, что снижение содержания триглицеридов в плазме крови больных ИБС после проведения афереза атерогенного фактора и восстановления этих показателей до исходного уровня к моменту проведения следующей процедуры наблюдалось в течение всего курса лечения (рис. 60). Другие показатели липидного и липопротеидного профиля на протяжении всего курса применения процедур афереза атерогенного фактора не изменялись. Это отчетливо демонстрируется данными диаграммы (рис. 61), на которой отражены результаты изучения содержания холестерина, ХС-ЛПВП в динамике проведенного лечения у больных ИБС с ангиографически документированным коронароатеросклерозом венечных артерий.

Остается неясным, чем обусловлено снижение содержания триглицеридов сразу же после перфузии плазмы крови больных через колонку с аутологичными ЛПНП. Для выяснения этого вопроса

необходимы новые эксперименты. Однако отсутствие изменений в содержании холестерина и ХС-ЛПВП, а также быстрое восстановление уровня триглицеридов позволяют заключить, что процедура афереза атерогенного фактора существенно не отражается на показателях липидного и липопротеидного состава сыворотки крови больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца.

Таблица 37

Влияние процедур афереза фактора атерогенности на липидный и липопротеидный состав плазмы крови больных ИБС

Больны е	Показатели (мг%)	Сроки исследования					
		I процедура		II процедура		III процедура	
		до	после	до	после	до	после
К-ов	Холестерин	159	143	188	170	149	176
	Триглицериды	128	47	188	54	306	81
	ХС-ЛПВП	41	36	39	35	41	35
	ХС-ЛПНП	93	98	111	124	47	125
	ХС-ЛПОНП	25,6	9,4	37,6	10,8	61	16
Коз-в	Холестерин	225	206	213	166	197	178
	Триглицериды	93	29	118	27	108	49
	ХС-ЛПВП	47	40	47	35	40	37
	ХС-ЛПНП	159	160	142	126	135,4	131,2
	ХС-ЛПОНП	19	6	24	5,0	21,6	9,8
Н-ов	Холестерин	188	178	175	150	193	187
	Триглицериды	94	50	145	50	39	39
	ХС-ЛПВП	22	33	38	36	39	33
	ХС-ЛПНП	147	135	108	108	146	146
	ХС-ЛПОНП	18,8	10	29	6	7,8	7,8
Ней-г	Холестерин	237	232	189	177	276	218
	Триглицериды	42	76	163	172	128	36
	ХС—ЛИНН	39	36	37	36	45	38
	ХС-ЛПНП	190	181	119	107	205	173
	ХС-ЛПОНП	8,4	15,2	32,6	34,4	25,6	7,2

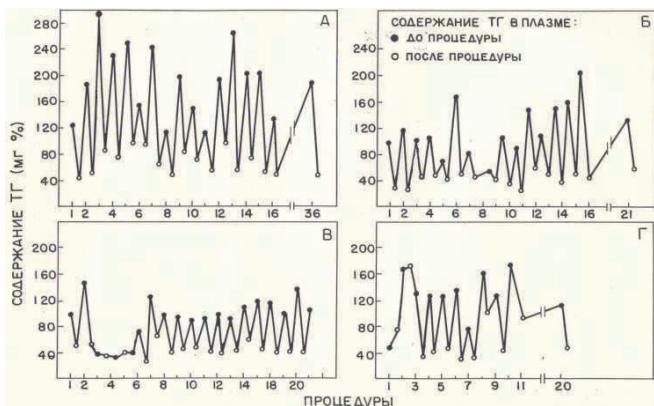


Рисунок 60. Динамика содержания триглицеридов у больных ИБС на протяжении курса процедур афереза атерогенного фактора.

А - больной Кор-в, 59 лет; Б - больной Коз-в, 47 лет; В-больной Н-в, 46 лет; Г - больной Н-г, 48 лет.

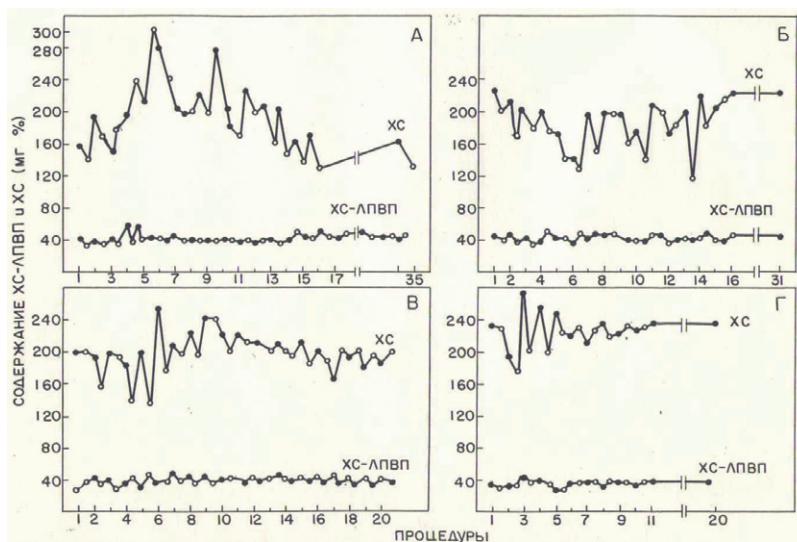


Рисунок 61. Динамика содержания холестерина и ХС-ЛПВП у больных ИБС на протяжении курса процедур афереза атерогенного фактора. - показатель до процедуры; - после процедуры.

А - б-ной Кор-в, 59 лет; Б - б-ной Коз-в, 47 лет; В - б-ной Н-в, 47 лет;
Г - б-ной Н-г, 48 лет

В целом результаты, представленные выше, свидетельствуют о том, что многократные процедуры перфузии плазмы крови больных ИБС, через колонки с аутологичными ЛПНП, резко снижая показатели атерогенности сыворотки крови этих больных, не вызывают побочных эффектов в отношении показателей липидного и липопротеидного состава крови. Следует также отметить, что ни в одном из случаев мы не отмечали каких-либо нежелательных реакций во время проведения процедур проведения афереза атерогенного фактора.

Данные, представленные в табл. 38 и на рис. 62-65, свидетельствуют о том, что длительный курс процедур перфузии пазмы крови через колонку с аутологичными ЛПНП позволил добиться значительного снижения показателей атерогенности сывороток крови у этих больных. Так, если до начала курса лечения сыворотки, выделенные из крови обследованных больных, вызывали существенное увеличение содержания холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека (от 213 ± 17 до $287\pm17\%$), то к моменту повторного исследования этот показатель у 2-х больных (Н-рг и Н-ов) практически не отличались от контроля (содержание холестерина в клетках при добавлении 40% сывороток этих больных составляли, соответственно, $100\pm15\%$ и $115\pm12\%$ по сравнению с контролем (100%) а у двух других больных (Коз-в и Кор-в) показатели холестерина в клетках не достигали даже 1,5 кратного накопления по сравнению с контролем.

Одновременно с изучением показателей атерогенности исследовалось также влияние длительного курса процедур афереза атерогенного фактора на клиническое состояние, показатели велоэргометрии и липидный состав сыворотки крови больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца. Соответствующие данные отражены в табл.39.

Таблица 38

Влияние курса процедур перфузии плазмы крови через колонку с аутологичными ЛПНП на показатели атерогенности сыворотки крови больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом

Больные	Сроки лечения	Количество процедур	Атерогенность (%)		P
			до лечения (а)	после лечения (б)	
Коз-в	18 мес	31	287±17	139±11 ^x	<0,05
Кор-в	12 мес	40	213±17	143±14 ^x	<0,05
Ней-г	12 мес	20	248±14	100±15 ^x	<0,05
Нес-в	12 мес	30	242±21	115±12 ^x	<0,05

Примечание: а - показатели атерогенности сыворотки больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий до начала , лечения

б - показатели атерогенности сывороток этих же больных перед началом последней процедуры афереза

^x - $p < 0,05$

За время лечения самочувствие всех четырех больных значительно улучшилось. Это проявлялось в снижении частоты приступов стенокардии и уменьшении степени их выраженности. Если до лечения количество приступов стенокардии в сутки у обследуемых больных колебалось от 20 до 30 приступов/сутки, а для их купирования больные в среднем принимали 40-50 таблеток нитроглицерина, то к моменту повторного обследования (через 12-18 мес. на фоне выполнения процедур афереза) частота загрудинных болей составляла в среднем 6-8 приступов в сутки, а число принимаемых таблеток нитроглицерина уменьшилось до 2-5 таб/сутки.

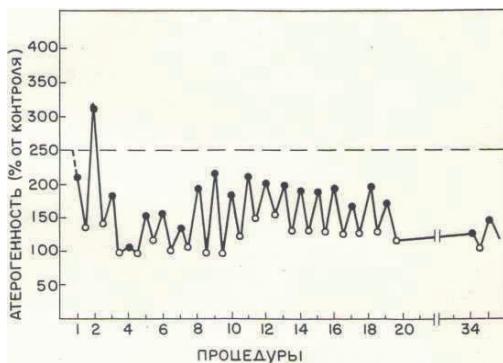


Рисунок 62. Динамика показателей атерогенности сыворотки больного Кор-ва, 59 лет, страдающего ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом под влиянием курса процедур атерогенного фактора.

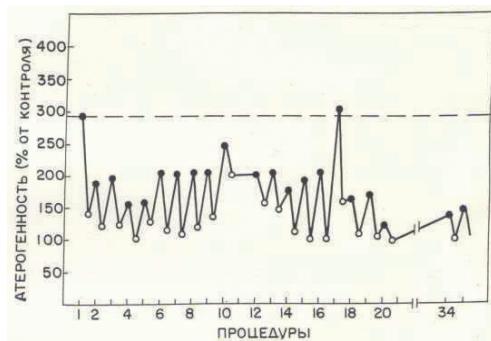


Рисунок 63. Динамика показателей атерогенности сыворотки больного Коз-ва, 47 лет, страдающего ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом под влиянием курса процедур атерогенного фактора

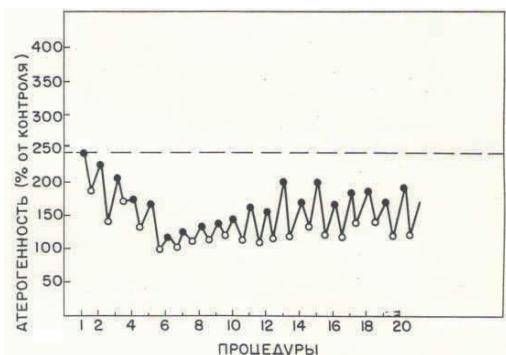


Рисунок 64. Динамика показателей атерогенности сыворотки больного Н-2, 48 лет, страдающего ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом под влиянием курса процедур атерогенного фактора

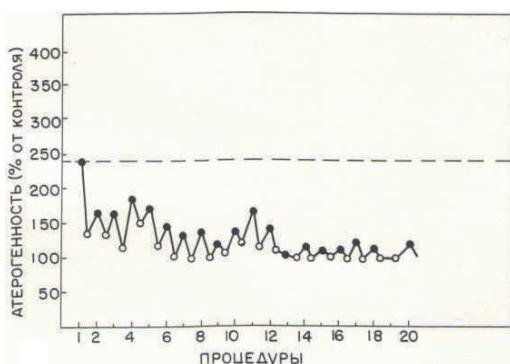


Рисунок 65. Динамика показателей атерогенности сыворотки больного Н-в, 46 лет, страдающего ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом под влиянием процедур атерогенного фактора

Таблица 39

Влияние длительного курса процедур афереза атерогенного фактора на клиническое состояние больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом

Фамилии пациентов	Кор-в		Н-бург		Коз-в		Н-ов	
	до	после	до	после	до	после	до	после
Стенокардия (функциональный класс)	III	II	II	II	III	II	III	III
Данные ВЭМ пробы	полож	полож	полож	полож	полож	полож	полож	полож
Тolerантность (кгм/мин)	600	600	450	450	600	750	450	450
объем выполняемой работы (кгм/мин)	3300	3300	2700	2700	3300	6000	2700	2700
Длительность ходьбы без приступа(м)	300	600	600-800	600-800	250-300	1000	300-400	400
Липидный состав(мг%) холестерин	255	201	220	224	225	220	227	254
триглицериды	97	181	128	95	93	168	109	115
ХС-ЛПВП	47	44	32	41	47	40	22	34
ХС-ЛПНП	189	120	162	164	159	146	183	197
ХС-ЛПОНП	19	36,2	26	19	19	33,6	21,8	23
Атерогенность (%)	213±17	143±14	248±14	100±15	287±17	139±11	242±21	115±12

Это позволило у 2-х больных, у которых до начала лечения была диагностирована стенокардия III функционального класса, перевести во II функциональный класс. Данные таблицы свидетельствуют также о том, что после проведенного курса процедур афереза атерогенного фактора у всех больных улучшилась переносимость физических нагрузок. Так, если до лечения больные проходили в среднем 400-450м, то после лечения длительность отрезка пути, который больные преодолевали без приступов стенокардии, составляла в среднем 650-700 м.

Длительный курс процедур афереза атерогенного фактора не отразился на показателях липидного и липопротеидного состава крови. Данные табл. 39 свидетельствуют о том, что содержание холестерина, триглицеридов и ХС-ЛПВП, а также концентрация ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП, находившиеся в пределах возрастных нормативов в исходном (до начала лечения) периоде, остались практически на том же уровне к моменту повторного обследования.

Таким образом, данные, представленные в настоящей главе, свидетельствуют о том, что процедуры афереза атерогенного фактора позволяют добиться терапевтического эффекта у больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца. Так, в результате двухчасовой экстракорпоральной перфузии плазмы больных ИБС через колонку с аутологичными ЛПНП атерогенность сыворотки крови этих больных резко падает. На следующий день после процедуры она исчезает полностью, а затем постепенно восстанавливается и через 7-15 дней достигает исходного уровня. Повторная процедура, проведенная через неделю после первой, также приводит к резкому снижению атерогенности. При многократном повторении процедур с частотой один раз в две-

три недели можно добиться поддержания показателей атерогенности плазмы крови больных на низком уровне.

Длительный курс афереза атерогенного фактора приводит к улучшению клинического состояния больных ИБС. У них уменьшается частота и снижается степень выраженности приступов стенокардии и возрастает объем выполняемой физической нагрузки.

Глава 7. ОЦЕНКА ПРЯМОГО АНТИАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Результаты, представленные нами в главах 4-6, свидетельствовали о перспективности применения методов экстракорпоральной терапии в лечении больных семейной гиперхолестеринемией и атеросклерозом венечных артерий сердца, не обусловленным генетическими аномалиями. Было также показано, что как при применении плазмообмена и ЛПНП-иммунофереза, а также афереза атерогенного фактора, эффекты которых могут быть достигнуты с помощью этих методов, довольно кратковременны. В связи с этим для уменьшения частоты процедур, наряду с методами экстракорпоральной терапии, целесообразно применение препаратов, обладающих прямым антиатерогенным действием. Не исключено, что совместное использование экстракорпоральных методов и фармакологических средств позволит добиться более выраженного эффекта на процессы обратного развития атеросклеротической бляшки. В этой связи могут представлять интерес и данные, полученные при изучении действия некоторых изученных нами препаратов.

Хорошо известно, что для лечения заболеваний, обусловленных развитием атеросклеротических изменений в магистральных артериях, до сих пор чаще всего используют симптоматическую терапию (нитраты, бета-адреноблокаторы и антагонисты кальция) и при высоком уровне холестерина в крови - гиполипидемические препараты (Tobert, 1982; Bilheimer et al., 1983; Paoletti et al., 1983; Kasaniemi et al., 1984). Не отрицая важности такого подхода, следует, однако, отметить, что существенный прогресс в этой области кардиологии может быть достигнут лишь при применении лекарственных средств, обладающих прямой

антиатеросклеротической активностью.

Вместе с тем, как в экспериментах на животных, так и в клинических исследованиях основным критерием эффективности применения лекарственных средств на ранних стадиях атеросклероза является их способность вызывать гиполипидемический эффект.

В то же время хорошо известно, что между процессами, развивающимися в области атеросклеротической бляшки, и нарушениями в обмене липидов и липопротеидов не всегда существует прямая зависимость (Ross et al., 1973-1986; Benditt et al., 1973; 1983). В клинических исследованиях неоднократно показано, что прекрасный гиполипидемический эффект того или иного лекарственного средства не всегда сочетается с исчезновением симптомов, обусловленных сужением просвета магистральных артерий атеросклеротической бляшкой. Становится ясным, что для выяснения механизма действия гиполипидемических препаратов, а также других веществ с антиатерогенной активностью, необходимо изучать влияние этих агентов на артериальную стенку и на регрессию атеросклеротических поражений.

Определенные перспективы для изучения этих вопросов открываются благодаря разработке и применению методов культивирования клеток, выделенных из сосудистой стенки. В частности, определенные успехи в изучении действия лекарственных препаратов на артериальную стенку связаны с применением методов культивирования гладкомышечных клеток (ГМК), выделенных из артерий животных (Ross et al, 1971-1984; Wissler, 1979; Orekhov et al., 1983-1987). Использование этих клеток в исследованиях, связанных с выяснением эффектов антиатерогенных препаратов, основано на концепции, согласно которой ГМК являются основным источником клеток атеросклеротической бляшки.

Изучение гладкомышечных клеток, выделенных из медии

кровеносных сосудов животных, позволяет изучать механизмы пролиферативного ответа гладкомышечных клеток в различных условиях, имитирующих атерогенные воздействия (Ross et al., 1971-1984). Культивируемые гладкомышечные клетки являются также широко распространенной моделью для изучения последовательности процессов, приводящих к их модификации из сокращающихся элементов в клетки, синтезирующие коллаген, эластин и протеогликаны (Ross et al., 1971-1984). Выращивание ГМК в строго контролируемых условиях позволило получить также принципиально новые данные о взаимодействии их с липопротеидами различных классов (Pearson et al., 1976; Goldstein, Brown, 1983), а также изучать механизмы превращения ГМК в пенистые клетки (Климов, Попов, 1976; Chen, Fischer-Dzoga, 1977; St. Clair, 1976).

Не отрицая значимости использования ГМК как модели для изучения клеточной биологии сосудистой стенки, мы считаем целесообразным привлечь внимание к фактам, не согласующимся с концепцией об атеросклерозе только как следствии модификации гладкомышечных клеток. Так, хорошо известны данные, свидетельствующие о том, что экспериментально индуцированные изменения в артериях животных по своей структуре отличаются от атеросклеротических изменений артерий у человека. Выраженные различия в структуре и клеточном составе интимы магистральных артерий у человека и животных (Чазов, 1973-1985) также косвенно свидетельствуют об неадекватности использования культур гладкомышечных клеток, выделенных из артерий животных, как клеточной модели для изучения механизмов действия антиатерогенных препаратов. В связи с этим определенный интерес заслуживают модели, источником клеток в которых является ткань стенки сосудов, полученная во время срочных аутопсий лиц,

умерших внезапно.

Ореховым с сотр. (1982-1986) разработана методика получения первичной культуры диспергированных ферментами клеток из внешне неизмененных и атеросклеротических участков аорты человека. Как показывают морфологические данные, клетки, полученные из непораженной интимы и атеросклеротических поражений состоят в основном из типичных и модифицированных гладкомышечных клеток (Orekhov et al., 1982-1986). Клетки, полученные из атеросклеротических поражений, характеризуются высоким уровнем содержания липидов и повышенной пролиферативной активностью, т.е. они сохраняют основные проявления атеросклероза на клеточном уровне (Orekhov et al., 1983-1986). Этот факт явился основанием для заключения о целесообразности использования первичной культуры этих клеток в качестве экспериментальной модели для изучения эффектов препаратов, использующихся в клинике, на регрессию атеросклеротических изменений в аорте человека (Orekhov et al., 1985; Tertov et al., 1986). Как показали результаты цитируемых исследований, система культуры клеток дает уникальную возможность для экспериментального изучения на человеческом материале. Еще одним преимуществом этой модели является то, что результаты, полученные на культуре клеток, можно легко интерпретировать.

Все вышеизложенное явилось основанием для использования клеток, выделенных из атеросклеротической бляти аорты человека, в качестве тест-модели для изучения прямого антиатеросклеротического действия лекарств.

В настоящей главе представлены данные о влиянии некоторых фармакологических препаратов на содержание липидов и пролиферативную активность культивируемых клеток аорты

человека - основных показателей, изменяющихся при атеросклерозе.

7.1. Липостабил

В последние годы для лечения больных атеросклерозом с сопутствующей гиперлипидемией широкое применение получили препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды (Blaton, 1978; Spigal, 1970; Pupita, 1969; Ehrly, 1976; Lekim, Graf, 1976). Одним из представителей лекарственных средств, в состав которых входят эссенциальные фосфолипиды, является липостабил (Samochowiec, 1976).

Показано, что при пероральном и внутривенном применении липостабила происходит снижение концентрации холестерина, уменьшение уровня липопротеидов низкой плотности и нормализации соотношения ЛПНП/ЛПВП в крови.

Остается, однако, неясным: способен ли липостабил индуцировать регрессию атеросклеротических изменений в стенке кровеносных сосудов человека.

В серии исследований, результаты которых представлены ниже, мы предприняли попытку установить, способен ли липостабил уменьшать содержание холестерина в культивируемых атеросклеротических бляшках аорты человека.

Для изучения антиатеросклеротического действия липостабила использовали первичную культуру клеток, ферментативно выделенных из интимы аорты человека по описанному выше (см. гл.2) методу. В эксперименте использовали 7-ми дневные культуры клеток, выделенные из атеросклеротической бляшки. Использовали также короткоживущую органную культуру неосложненных фиброзных бляшек аорты человека. Липиды экстрагировали и определяли согласно описанному выше (см. гл.2) методу..Использовали препарат липостабил-(1,2-дилинолеоил

фосфатидил холин) фирмы "Босналик" СФРЮ по лицензии "Натерман", ФРГ.

На рис. 66 представлены данные о влиянии липостабила, добавленного в различных концентрациях в среду культивирования, на содержание холестерина в клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека.

Как видно из представленных данных, липостабил в концентрациях, начиная с 250 мкг/мл, достоверно снижает содержание холестерина в клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки. Дальнейшее увеличение концентрации липостабила в культивируемой среде (500 мкг/мл, 1000 мкг/мл) не приводило к возрастанию холестеринснижающего эффекта этого препарата. При более высоких концентрациях липостабила в среде (1250-2500 мкг/мл) отмечалось прямое токсическое действие этого препарата: более 30% культивируемых клеток погибали в данных условиях.

В связи с этим в дальнейших экспериментах по изучению действия липостабила мы добавляли этот препарат к культивируемым клеткам и органной культуре в концентрациях 250 мкг/мл.

В табл. 40 представлены данные о влиянии липостабила в концентрации 250 мкг/мл на содержание холестерина в клетках, выделенных из двух атеросклеротически измененных аорт. Как видно из таблицы, добавление липостабила-, в среду вызывает резкое (на 38,7% и на 33,5% от контроля) снижение концентрации холестерина в культивируемых клетках.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСТАБИЛА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ХОЛЕСТЕРИН



Рисунок 66. Влияние липостабила на уровень содержания холестерина в культивируемых клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки

Таблица 40

Влияние липостабила на содержание холестерина в первичной культуре клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека

№ аорты	Суммарный ХС (мг/10 ⁵ кл)		P
	контроль	+250 мкг липостабила	
1	67,3±8,1	41,2±2,1	<0,05
2	80,4±1,3	53,4±1,6	<0,05

Таблица 41

Влияние липостабила на содержание холестерина в короткоживущей органной культуре атеросклеротической бляшки аорты человека

№ аорты	Общее содержание холестерина (мг ХС/г)			
	контроль	+липостабил	%	P
1	326,9±8,4	187,8±6,3	42,6±0,83	<0,001
2	249,0±11,6	183,7±5,8	25,8±2,18	<0,01
3	261,5±12,5	170,6±10,0	34,7±1,2	<0,01
4	345,9±7,9	194,9±6,2	43,6±1,4	<0,001

Примечание: "контроль" - содержание холестерина в клетках (табл.40) и в органной культуре (табл.41) атеросклеротически измененных участках аорты внезапно умерших лиц.

"+липостабил" - содержание холестерина в клетках (табл.40) и в органной культуре (табл.41) рядом лежащих участков атеросклеротически измененной аорты после добавления препарата в среду культивирования.

% - уменьшение содержания холестерина после добавления липостабила в органную культуру (табл.41) в процентах к контролю.

P - достоверность различий.

Оставалось неясным, влияет ли добавление липостабила и на содержание холестерина в короткоживущей органной культуре, полученной из атеросклеротических бляшек. Полученные данные представлены в табл.41.

Можно видеть, что добавление липостабила в культивируемую среду в концентрации 250 мкг/мл вызывало значительное (от $25,8\pm2,18$ до $42,6\pm0,83\%$) снижение концентрации холестерина в органной культуре атеросклеротической бляшки.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что липостабил способен снижать содержание холестерина в первичной культуре клеток и органной тканевой культуре аорты человека, выделенной из атеросклеротических поражений, т.е. именно в тех клетках и тканях, которые вовлечены в атерогенез. Этот факт позволяет прямым антиатеросклеротическим действием на уровне клеток артериальной стенки, вызывая регрессию основных клеточных и межклеточных проявлений атеросклероза.

7.2. Холестирамин и клофибрат

Другим классом гиполипидемических препаратов, нашедшим применение в комплексном лечении больных атеросклерозом, являются катионные смолы (Kane, Mahley, 1982). Установлено, что при использовании фармакологических веществ этого ряда происходит резкое снижение содержания в крови уровней общего холестерина и ЛПНП (Jacotot, 1979; Turpin, 1979; Bour, 1975; Pometta, 1980).

К препаратам, в состав которых входят катионные смолы, принадлежит холестирамин, терапевтическая эффективность которого для лечения больных атеросклерозом является предметом дискуссий (Leren, 1987; Carlson et al., 1977; Levy, 1986; Blackburn, 1986).

Мы решили целесообразным изучить, обладает ли холестирамин прямым действием на атеросклеротически измененные сосуды человека. С этой целью в среду для культивирования клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты, добавляли холестирамин (GERMED , Виттефельд, ГДР) в концентрациях 10, 100 и 1000 мкг/ мл. Результаты этого эксперимента представлены на рис. 67.

Полученные данные свидетельствуют о том, что добавление холестирамина в среду для культивирования не позволило добиться снижения содержания холестерина в клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что холестирамин не обладает сколь-нибудь существенным прямым действием на атеросклеротическую бляшку. Хорошо известно, что гиполипидемический эффект катионных смол, к классу которых относится и холестирамин, заключается в связывании желчных кислот и предотвращении их поступления из кишечника в кровь (Jacotot, 1979).

В норме реабсорбция желчных кислот составляет около 95%.

При назначении холестирамина экскреция печенюю желчных кислот увеличивается в 10 раз. Холестерин, необходимый для усиленного синтеза желчных кислот, поступает из кишечника, а также из крови в печень, где он используется для синтеза желчных кислот. Это и приводит к снижению уровня холестерина в плазме крови, у больных с гиперлипидемией.

Полученные нами данные являются еще одним аргументом в пользу заключения о том, что терапевтическое действие холестирамина не связано с прямым действием этого препарата на атеросклеротически измененную стенку кровеносных сосудов, а обусловлено его опосредованным влиянием на пути использования

холестерина в синтезе желчных кислот.

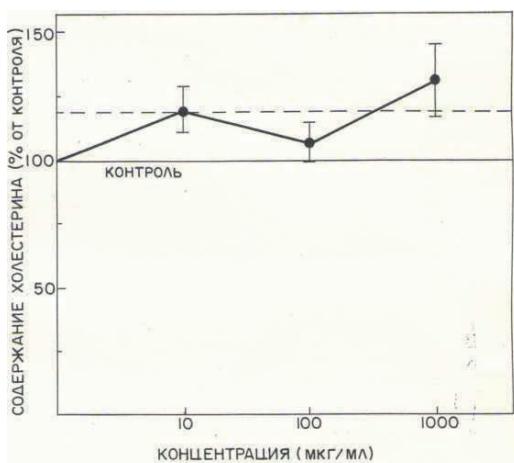


Рисунок 67. Влияние холестирамина на содержание холестерина в культивируемых клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека.

Еще одним препаратом, наиболее часто использующимся для коррекции нарушений липидного обмена, является клофибрат. Действующим веществом клофибрата является клофибриновая кислота. Показано, что клофибриновая кислота быстро всасывается в тонком кишечнике и связывается в сыворотке с альбумином (Jacotot, 1979). В медицинской литературе развернулась дискуссия о целесообразности применения клофибрата (Dujovne et al., 1979; Bonora et al., 1981; Wechsler et al., 1982; Miettinen et al., 1982; Schwandt, 1982). Предприняты исследования, направленные на изучение эффективности действия и побочных эффектов этого препарата. Поэтому нам казалось целесообразным изучить влияние клофибрата на атеросклеротическую бляшку, используя описанную выше клеточную тест-систему. Использовали препарат фирмы

Гедеон Рихтер.

В табл.42 представлены результаты этого эксперимента.

Можно видеть, что клофибрат ни в одной из изученных нами концентраций не вызывал достоверного изменения в содержании уровня холестерина в культивируемых клетках, выделенных из аорты человека. Такие данные позволяют сделать заключение о том, что для клофибрата не свойственно прямое антиатерогенное действие.

По современным представлениям, гиполипидемическое действие клофибрата обусловлено другими механизмами. Предполагают, что клофибриновая кислота вытесняет тироксин и неэстерифицированные жирные кислоты из их соединения с альбумином. В печени происходит накопление тироксина, усиленный распад жирных кислот и уменьшение образования триглицеридов. В результате блокирования альбумина как акцептора жирных кислот уменьшается поступление субстрата в печень, а вместе с тем и синтез триглицеридов в печени и кишечнике (Naruszewicz et al., 1980; Spano et al., 1974; Ohtani, 1977; Goldberg et al., 1977).

Такие данные свидетельствуют о том, что гиполипидемический эффект клофибрата обусловлен его влиянием на катаболизм в печени и процессы удаления этого соединения из организма. Вместе с тем, используемая нами клеточная система для оценки прямого атеросклеротического действия лекарств позволяет изучать процессы, происходящие непосредственно в атеросклеротической бляшке. Полученные данные, свидетельствуют о том, что клофибрат не вызывает достоверного снижения холестерина в первичной культуре клеток, выделенных из бляшки, позволяет сделать заключение о том, что данное лекарственное средство не обладает прямым антиатеросклеротическим действием.

Таблица 42

Влияние клофибрата на содержание холестерина ($\text{мкГ}/10^5$) в первичной культуре клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека

Контроль	+ клофибрат				
	10^{-9}M	10^{-8}M	10^{-7}M	10^{-6}M	10^{-5}M
$0,94\pm 0,06$	$0,86\pm 0,07$	$0,86\pm 0,06$	$0,81\pm 0,05$	$0,81\pm 0,04$	$0,85\pm 0,06$

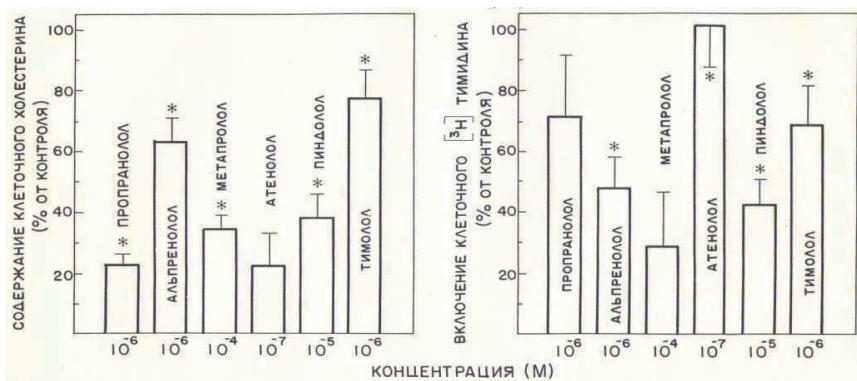


Рисунок 68. Атерогенные эффекты бета-адреноблокаторов в культуре клеток.

Данные значения среднего $M\pm m$ ошибки для 6-15 определений. Препараты испытывали в диапазоне концентраций от 10^{-9} до 10^{-4} М. Представлены максимально эффективные концентрации. Содержание общего холестерина в контрольных клетках колебалось от 208 до 267, включение холестерина колебалось от 31 до 68.

* - достоверные отличия от контроля, $P<0,05$

7.3. Бета-адреноблокаторы

Бета-адреноблокаторы широко применяются в терапии ишемической болезни сердца (ИБС), причиной которой часто является атеросклероз коронарных артерий. Однако, улучшая симптомы ишемии миокарда, эти лекарства могут обладать побочными действиями, в частности, они могут изменять липидный состав крови, делая его более атерогенным (Weidman et al., 1983; Zanchetti et al., 1986; Leren et al., 1987).

Мы решили выяснить, какое влияние бета-адреноблокаторы оказывают на показатели активности атеросклеротического процесса в культуре: пролиферативную активность клеток и содержание в них липидов. О влиянии исследуемого препарата в данной концентрации судили на основании трех независимых измерений пролиферативной активности и содержания холестерина в клетках, выделенных из 3-х аорт (рис. 68).

Можно видеть, что добавление в культуру таких клеток бета-адреноблокаторов приводило к дополнительному увеличению общего холестерина в клетках и стимуляции пролиферации (увеличению включения тимицина).

Так, при добавлении пропранолола в концентрации 10^{-6} М содержание холестерина в клетках возросло на $23\pm4\%$, а уровень включения тимицина в клетки - на $71\pm20\%$ (рис. 68). Еще более выраженным был эффект альпренолола: при его добавлении содержание холестерина в клетках увеличивалось на $64\pm10\%$ в сравнении с соответствующим контролем. Одновременно возросла и пролиферативная активность клеток, культивируемых из атеросклеротической бляшки - на $48\pm10\%$. Добавление в культуру и других бетаблокаторов метапролола, атенолола, линдолола и тимолола вызывало аналогичное действие: возрастание уровня содержания холестерина в клетках и повышение скорости включения

^3H -тимицина (см. рис. 68).

На основании результатов проведенного исследования можно заключить, что применение бета-адреноблокаторов способствует возникновению в плазме крови больного атерогенного потенциала, реализующегося на уровне артериальных субэндотелиальных клеток. Если этот атерогенный потенциал способен реализоваться не только на культивируемых клетках, но и ин виво, можно предположить, что длительное применение бета-адреноблокаторов способно ускорить развитие имеющихся атеросклеротических поражений и облегчить возникновение новых.

7.4. Антагонисты кальция

Имеются данные о том, что кальциевые антагонисты защищают животных от экспериментального атеросклероза. Нет уверенности в том, что модели на животных и атеросклероз человека сходны и существует очень мало исследований, подтверждающих связь регрессии атеросклероза и кальциевых потоков. В связи с вышеизложенным мы сочли целесообразным изучить несколько препаратов, относящихся к группе антагонистов кальция в отношении их способности вызывать антиатеросклеротический эффект при их добавлении в используемую нами клеточную тест-систему.

На рис. 69 представлены данные о влиянии верапамила на пролиферативную активность клеток интимы аорты человека. Можно видеть, что верапамил в концентрации 10^{-5}M и выше ингибировал клеточную пролиферацию в первичной культуре интимальных клеток аорты человека; минимальной концентрацией, вызывающей максимальное (почти десятикратное) подавление включения ^3H -тимицина, оказалась 5×10^{-5} (рис. 69). В этой концентрации верапамил за 48 час. инкубации с клетками аорты

вызывал значимое снижение содержания внутриклеточных фосфолипидов (на 35%), триглицеридов (на 25%), эфиров холестерина (на 23%), но не свободного холестерина.

Кроме того, верапамил значимо подавлял синтез коллагена в культуре (табл.43).

Таким образом, мы показали, что верапамил способен нормализовать основные "атеросклеротические" показатели в первичной культуре субэндотелиальных интимальных клеток аорты человека, выделенных из атеросклеротических поражений, т.е. именно тех клеток, которые вовлечены в атерогенез. Этот факт позволяет предположить, что верапамил ин виво может обладать прямым антиатеросклеротическим действием на уровне клеток артериальной стенки, вызывая регрессию основных клеточных проявлений атеросклероза. В настоящее время верапамил применяют для лечения больных атеросклерозом с сопутствующей гипертонией, при этом лекарство назначается как средство, снижающее кровяное давление. Однако, как было показано (Parmley et al., 1985) защита верапамилом у кроликов с холестериновой диетой не является результатом снижения кровяного давления. Учитывая этот факт и исходя из собственных экспериментальных данных, мы можем предположить, что в некоторых случаях положительные эффекты лечения верапамилом больных атеросклерозом связаны, по крайней мере, отчасти, с его прямым антиатеросклеротическим действием.

Таким образом, испытанный антагонист кальция - верапамил проявил в культуре прямое антиатеросклеротическое действие, заключавшееся в нормализации основных атеросклеротических проявлений на клеточном уровне. На основании проведенного исследования на клеточной модели можно сделать следующее предварительное заключение. Поскольку исследованные антагонисты кальция обладали прямым антиатеросклеротическим

действием на "атеросклеротические" клетки, их применение ин виво, возможно, приводит к регрессии атеросклеротического поражения.

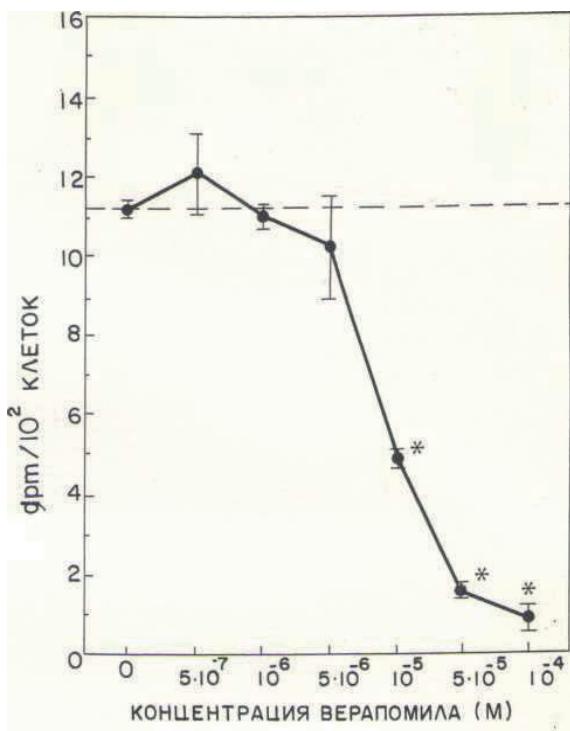


Рисунок 69. Действие верапамила на пролиферативную активность клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека. Первичную культуру субэндотелиальных интимальных клеток аорты человека получали ферментативным перевариванием ткани 0,1% коллагеназой, как описано выше (см. гл.2 настоящей работы). В экспериментах использовали 7-дневные культуры, состоящие из типичных и модифицированных гладкомышечных клеток. Пролиферативную активность клеток в культуре оценивали по включению 3H -тимицина в трихлорацетат нерастворимую фракцию.

Таблица 43

Влияние верапамила на содержание липидов в клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека

Параметр	Контроль	Верапамил 5×10^5 м
Содержание липидов мкг/ 10^3 клеток		
Фосфолипиды	71,4±10,9	47,1±5,4 ^X
Свободный холестерин	46,8±5,3	41,7±4,2
Триглицериды	12,1±1,7	9,2±0,3 ^X
Эфиры холестерина	30,8±1,6	23,6±0,6 ^X
Синтез коллагена, д.п.м./ 10^3 клеток	2.500±102	1,854±123 ^X

Примечание: "контроль" - содержание липидов и уровень синтеза коллагена клетками, выделенными из атеросклеротической бляшки аорты человека

"верапамил" - аналогичные показатели после добавления препарата в культуру

^X - обозначает достоверность различий ($p < 0,05$) в сравнении с исходной величиной

Не исключено, что обнаруженная Ginsburg et al. (1983) и Parmley et al. (1985) регрессия атеросклеротических изменений у кроликов, индуцируемая применением верапамила, обусловлена прямым антиатеросклеротическим действием этого препарата.

Однако мы не считаем, что первичные данные по скринингу позволяют сделать окончательные выводы о фармакологическом действии исследованных веществ. Возможно, что некоторые соединения, которые проявляют антиатеросклеротическую активность в первичном скрининге, могут представлять интерес как

потенциальные антиатеросклеротические препараты. Для этого необходимо дальнейшее исследование механизмов действия этих веществ на клетки сосудистой стенки и окончательные доказательства возможности их клинического применения.

В целом результаты экспериментов, представленные в настоящей главе, свидетельствуют о перспективности использования клеток, выделенных из аорты человека и культивируемых ин витро в качестве тест-системы для оценки прямого действия некоторых препаратов, получивших применение в кардиологической клинике на основные процессы, развивающиеся в области атеросклеротически измененных участков артерий.

Как и ожидалось, холестирамин и клофибрят не обладают прямым антиатеросклеротическим действием, так как в основе гиполипидемических эффектов этих препаратов лежит их способность вызывать возрастание скорости выведения холестерина с желчными кислотами.

В то же время другой препарат, широко применяемый в кардиологических клиниках - липостабил обладает способностью вызывать резорбцию липидов из атеросклеротической бляшки. Как известно, в состав липостабила входят эссенциальные фосфолипиды и при применении этого препарата возрастает скорость этерификации холестерина, катализируемой лецитин-холестерин-ацил-трансферазы. Предполагают, что на фоне использования липостабила активизируются процессы акцепции холестерина из мест его накопления (атеросклеротическая бляшка) и обратного транспорта этого соединения из периферических органов (ткань сосудистой стенки) в печень. Полученные нами данные согласуются с таким предположением: при добавлении липостабила в

культуральную среду содержание холестерина снижается как в первичной культуре клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки, так и в органной культуре атеросклеротически измененной интимы аорты человека.

В плане дальнейшего клинического использования представляют определенный интерес и данные, полученные нами при изучении действия бета-адреноблокаторов. Они могут рассматриваться как доказательство прямого атерогенного действия этих препаратов. В связи с этим при назначении бета-адреноблокаторов больным для их длительного применения следует учитывать ограничения, связанные с возможными побочными эффектами этих препаратов - индуцировать развитие атеросклеротических изменений.

Определенную практическую значимость имеют и выводы, сделанные нами на основании изучения действия антагониста кальция на клетки атеросклеротической бляшки. Уменьшение содержания липидов, угнетение пролиферативной активности и снижение скорости синтеза коллагена, вызываемые добавлением верапамила и других антагонистов кальция - являются клеточными феноменами, указывающими на прямое антиатерогенное действие этих препаратов.

7.5. Искусственные ЛПВП-подобные частицы

Как свидетельствуют данные литературы, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) рассматриваются в качестве антиатерогенного фактора (Климов, 1977-1983; Герасимова с соавт., 1978-1984; Перова с соавт., 1980-1985; Gotto, 1983; Goldstein, Brown, 1974-1984). На многочисленных организованных и не организованных популяциях показано, что снижение уровня ХС-ЛПВП в крови является неблагоприятным прогностическим

фактором, указывающим на высокую степень риска развития ишемической болезни сердца, в то время как повышение содержания ХС-ЛПВП в крови отрицательно коррелирует с развитием этого заболевания (Климов, 1977-1983; Герасимова с соавт., 1978-1984; Menotti, 1983; Avaranis, 1983; Salonen, Puska, 1983 и др.). Считают, что при недостатке ЛПВП в крови снижается скорость акцепции холестерина из клеток, расположенных в атеросклеротически измененных участках артерий и происходит замедление скорости катаболизма и удаления из организма холестерина. Такие представления базируются на результатах, полученных в исследованиях с использованием метода культивирования клеток вне организма, в которых установлена способность ЛПНП акцентировать холестерин из клеток с избыточным содержанием этого соединения (Bates et al, 1976; Stein et al., 1986; Gotto, 1983, 1984). Показано также, что важной физиологической функцией ЛПВП является транспорт акцептированного холестерина из мест его накопления (интима артерий) в кишечник и печень (Климов, 1977-1983; Gotto, 1983, 1984; Stein et al, 1986). Эти два органа обладают способностью к выведению холестерина из организма. В печени, под влиянием системы специализированных ферментов происходит превращение этого соединения в желчные кислоты, которые выделяются в просвет кишечника в составе желчи.

Как уже отмечалось в "Обзоре литературы", одним из перспективных направлений фармакотерапии атеросклероза является поиск препаратов, ускоряющих акцепцию холестерина из клеток сосудистой стенки. Были синтезированы искусственные ЛПВП - подобные частицы, состоящие из комплекса апо-AI(лекитин) холестерин, которые по своим физико-химическим свойствам приближаются к нативным ЛПВП.

Мы решили выяснить, обладает ли этот комплекс такой же

биологической активностью, что и ЛПВП, в частности, способен ли он увеличивать скорость оттока холестерина из клеток артериальной стенки. С этой целью были использованы 8-дневные культуры интимальных клеток, ферментативно-выделенных из атеросклеротических поражений (жировых полос и бляшек) аорты человека. Как уже отмечалось, такие клетки отличаются от интимоцитов неизмененной интимы высоким содержанием внутриклеточных липидов, особенно эфиров холестерина, и способны сохранять постоянный уровень липидов в течение 12-14 дней культивирования (Tertov et al., 1982; Orekhov et al., 1982).

На рис. 70 представлены данные о влиянии нативных ЛПВП и искусственных ЛПВП-подобных частиц на содержание эфиров холестерина в культивируемых клетках, выделенных из атероскллеротической бляшки аорты человека. Можно видеть, что ЛПВП - подобные комплексы, также как и нативные ЛПВП, обладают способностью вызывать снижение содержания эфиров холестерина в клетках, выделенных из атероскллеротически измененных участков аорты человека (липидной полосы). При этом акцептирующая эфиры холестерина активность проявлялась при добавлении нативных ЛПВП и искусственных ЛПВП - подобных комплексов к культуральной среде в концентрации, равной 30 мкг апо-AI/мл среды. Увеличение содержания ЛПВП и ЛПВП-подобных частиц не приводило к дальнейшему снижению содержания эфиров холестерина в культивируемых клетках.

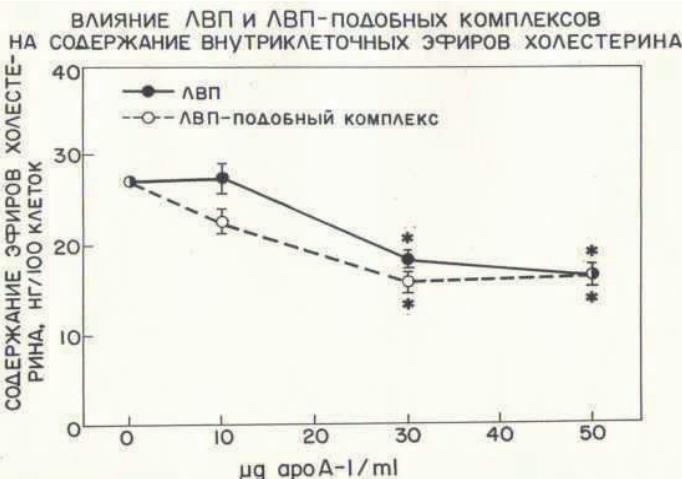


Рисунок 70. Кривые доза-эффект для ЛПВП и ЛПВП-подобного комплекса на содержание эфиров холестерина в клетках, культивируемых из жировой полосы аорты человека. Звездочками отмечены средние значения, достоверно ($p<0,05$) отличающиеся от контроля.

Представляло интерес также установить, отразится ли добавление искусственных ЛПВП подобных комплексов на содержании других классов липидов в культивируемых клетках, выделенных из интимы атеросклеротической бляшки аорты человека. Соответствующие данные представлены на рис. 71. Как свидетельствуют результаты экспериментов, ЛПВП - подобный комплекс оказался не менее эффективным, чем нативные ЛПВП, в отношении их способности снижать содержание и других компонентов липидов в участках их избыточного накопления: фосфолипидов - 33%, триглицеридов - на 68% и эфиров холестерина - на 72,2%.

На основании полученных данных можно предположить, что

искусственные ЛПВП-подобные частицы обладают такой же биологической активностью, как и нативные ЛПВП. Способность апо-AI содержащих комплексов акцептировать эфиры холестерина и другие классы липидов из клеток атеросклеротической бляшки открывает определенные перспективы для практического использования этих ЛПВП-подобных частиц. Действительно, накопления липидов в субэндотелиальных клетках интимы артерий, как известно - наиболее заметное проявление атеросклероза на клеточном уровне (Wissler, 1979; Moore, 1985; Stemerman et al., 1986). По мнению многих авторов, липоидоз является ключевым событием в цепи реакций сосудистой стенки, конечным результатом которых являются атеросклеротические изменения артерий (Wissler 1979; Ross, 1986; Malinov, 1983 и др.).иц

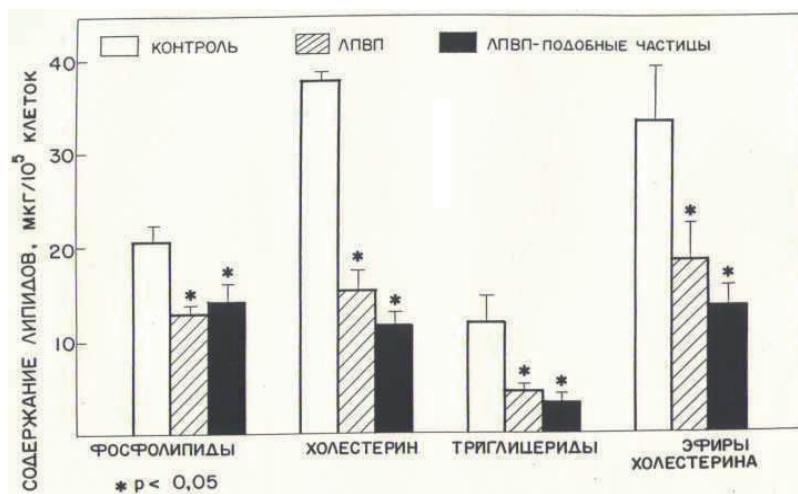


Рисунок 71. Влияние ЛПВП и ЛПВП-подобных частиц на содержание липидов в клетках, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека. Нативные ЛПВП и искусственные ЛПВП-частицы добавляли к культуральной среде в концентрациях 50 мкг апо-AI/мл среды.

В связи с этим можно предположить, что введение ЛПВП-подобных частиц в кровоток может способствовать резорбции уже сформировавшихся липидных отложений в интиме артерий и, тем самым, приводить к регрессии атеросклеротических изменений сосудов. Другим аспектом использования ЛПВП-подобных частиц для лечения больных атеросклерозом может быть применение колонок, состоящих из апо-AI (лецитин) холестерин-содержащих комплексов. Для проверки правомерности подобных предположений необходимы специальные клиникоэкспериментальные исследования. Следует, однако, отметить, что данные, представленные в настоящем разделе, свидетельствуют о принципиальной возможности использования подхода, основанного на применении искусственных апо-AI содержащих комплексов, способствующих возрастанию скорости акцепции липидов из субэндотелиальных клеток атеросклеротически измененной интимы артерий человека и, тем самым, вызывающих регрессию атеросклеротических изменений в сосудах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успехи, достигнутые в изучении атерогенеза (Чазов, 1981; 1985; Клинов, 1977-1985; Goldstein, Brown, 1977; 1984; Gotto, 1979-1984; Moore, 1981; Stemerman et al., 1986) определили основные направления поисков в области разработки и совершенствования новых методов лечения заболеваний, связанных с развитием атеросклеротических изменений венечных артерий сердца (Tobert, 1982; Bilheimer, 1983; Paoletti et al., 1983; Yhompson, 1977-1986; Stoffel et al., 1981-1986; Borberg et al., 1983, 1986). В частности, расшифровка патогенеза семейной гиперхолестеринемии явилась основой для применения и развития экстракорпоральных методов терапии у больных с данной патологией. Действительно, как установлено в исследованиях Гольдштейна и Брауна, повышение уровня содержания ЛПНП в крови больных семейной ГХС обусловлено дефицитом и/или нарушением функционирования ЛПНП-рецепторов клеток периферических органов и тканей (Goldstein, Brown 1977-1984). Вследствие этого процессы интернализации ЛПНП клетками у этих больных резко нарушены и происходит "задержка" атерогенных классов липопротеидов в крови. Поскольку до сих пор не создано фармакологических препаратов, направленно воздействующих на процессы интернализации и катаболизма ЛПНП, в последние годы для лечения больных семейной ГХС предложены экстракорпоральные методы, позволяющие добиться удаления избытка ЛПНП из организма больного (Лопухин с соавт., 1979; Thompson et al., 1977-1986; Berger et al., 1980; Lupien et al., 1980, 1982; Stoffel et al., 1981-1986).

Было показано, что удаление избытка ЛПНП из плазмы крови с помощью плазмообмена, двойной ультрафильтрации, аффинной хроматографии и иммунодиффузии позволяет добиться улучшения клинического состояния больных семейной ГХС (Thompson et al,

1977-1986; Lupien et al., 1980-1982; Stoffel et al., 1981-1985). Однако опыт применения методов экстракорпоральной терапии у больных семейной ГХС был еще недостаточен для формулировки окончательных заключений об их терапевтической эффективности и возможных побочных эффектов.

Среди методов экстракорпоральной терапии наибольшее применение в лечении больных семейной ГХС получил плазмообмен (Thompson et al., 1977-1986; Berger et al., 1980; Etta et al., 1980; Apstein et al., 1978; Stein et al., 1986). Считают, что с помощью длительного курса плазмообмена у пациентов с данной наследственной аномалией можно добиться стойкого лечебного эффекта. Вместе с тем имеются и критические замечания о целесообразности применения плазмообмена у больных семейной ГХС (Покровский с соавт., 1986). Противники использования этого метода указывали на отсутствие селективности плазмообмена и возможность развития побочных эффектов.

В этой связи одним из направлений исследований, результаты которого представлены в настоящей работе, явился анализ данных, полученных при применении длительного курса плазмообмена у больных семейной ГХС.

Прежде всего, необходимо было оценить информативность критериев, использованных при разработке показаний к назначению плазмообмена и других методов экстракорпоральной терапии.

Было установлено, что данные анамнеза и результаты клиникоинструментального обследования больного могут быть использованы лишь в качестве дополнительных признаков при разработке показаний к назначению экстракорпоральных методов удаления ЛПНП из плазмы крови. Диагноз семейной ГХС (и, соответственно, применение этих методов) может быть поставлен лишь в том случае, когда у больного, наряду с резким возрастанием

уровня циркулирующих ЛПНП, имеют место уменьшение числа и/или нарушения функции ЛПНП рецепторов. Такие данные в целом согласуются со сведениями имеющейся литературы (Goldstein, Brown, 1977-1984; Лопухин, Маркин, 1983). Следует, однако, отметить, что заключения о дефиците и нарушении функции ЛПНП-рецепторов были сделаны в исследованиях, посвященных изучению патогенеза семейной ГХС. В то же время в большинстве доступных нам работ, посвященных клиническим аспектам применения экстракорпоральных методов у больных семейной ГХС этому вопросу уделяли недостаточное внимание. Во многих случаях процедуры плазмообмена назначались при обнаружении таких изменений липидного и липопротеидного состава, характер которых соответствовал II-а типу гиперхолестеринемии (Thompson et al., 1977; Berger et al., 1980; Etta et al., 1980). Вместе, с тем полученные нами данные свидетельствуют о том, что изучение содержания холестерина, триглицеридов, ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП не позволяет получить надежных критериев, указывающих на необходимость применения экстракорпоральных методов. Действительно, из 10 больных с высоким уровнем содержания суммарного холестерина и резким возрастанием ХС-ЛПНП в крови, лишь у 4 больных было установлено уменьшение количества ЛПНП-рецепторов (на 27,6 - 55,6%) и снижение скорости интернализации ЛПНП (на 28,2-61,3%). В связи с этим перед назначением методов экстракорпоральной терапии больным семейной гиперхолестеринемией (ГХС) целесообразно изучать показатели взаимодействия и поглощения липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) фибробластами, выделенными из кожи. Изучение ЛПНП-рецепторики позволяет установить информативные критерии при разработке показаний к применению процедур плазмообмена и ЛПНП-иммunoфереза.

9 больным с диагнозом "семейная гиперхолестеринемия" были

назначены процедуры плазмообмена.

Изучение эффектов однократной процедуры плазмообмена на показатели липидного и липопротеидного состава крови позволило подтвердить заключение многих авторов о том, что замещение плазмы крови больного на 50-60% от циркулирующей крови с эквивалентными объемами физиологического раствора и белковых компонентов (альбумина) не является методом селективного удаления ЛПНП (Thompson et al., 1977, 1979, 1981, 1986; Berger et al., 1980, 1982; Etta et al., 1980; Apstein et al., 1978). Было установлено, что снижение содержания холестерина на 21-57% обусловлено удалением как ЛПНП, так и ЛПВП. Об этом свидетельствуют данные о том, что после проведения процедуры плазмообмена в крови больных семейной ГХС уменьшается концентрация апо-B (на 36-55%), ХС-ЛПВП (на 33-50%) и ХС-ЛПНП (на 35-50%).

В исследованиях, посвященных изучению влияния однократных процедур плазмообмена, было также показано, что уменьшение содержания холестерина, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП, обусловленное применением плазмообмена, является кратковременным и для поддержания холестерина на низком уровне процедуры необходимо повторять с интервалом в 7-10 дней. Такое заключение также согласуется с выводами других авторов, применявших этот метод экстракорпоральной терапии у больных семейной ГХС (Thompson et al., 1977, 1979, 1981; Berger et al., 1980; 1982; Apstein et al., 1978; Etta et al., 1980).

Нами была изучена терапевтическая эффективность применения длительного курса (4-12 мес) процедур плазмообмена (30-45 процедур) у больных семейной ГХС. Было установлено, что этот метод экстракорпоральной терапии позволяет добиться выраженного гиполипидемического эффекта: снижения содержания в крови суммарного холестерина (на 35-48%), уменьшения уровня

ХС-ЛПНП (на 42-50%) и, неожиданно, возрастания содержания ХС-ЛПВП (на 5-38%). В результате возрастал показатель отношения ХС-ЛПВП/ХС-ЛПНП (на 100-200%). Одновременно улучшалось и клиническое состояние больных семейной ГХС; уменьшалась частота и снижалась степень выраженности приступов стенокардии, нормализовались показатели артериального давления и возрастал объем выполняемых физических нагрузок.

Наши данные согласуются с выводами других авторов, изучавших влияние длительного курса процедур плазмообмена у больных семейной ГХС (Thompson et al., 1977-1986; Berger et al., 1980; 1982; Apstein et al., 1978; Etta et al., 1980).

Однако дальнейшие исследования, посвященные изучению побочных эффектов плазмообмена, позволили нам получить данные, свидетельствующие о некоторых ограничениях этого метода экстракорпоральной терапии. Было установлено, что длительный курс плазмообмена, не отражаясь на показателях белкового и электролитного состава крови, не изменяя концентрацию инсулина, С-пептида, СТГ, ангиотензина I, тестостерона, кортизола и паратгормона, а также не оказывая существенного влияния на функциональное состояние тромбоцитов, приводит к уменьшению концентрации фибронектина (на 50,0-71,3%) и иммуноглобулинов двух классов (А на 33,3-55,1% и М - на 35,7-42,4%) в крови. Такие данные свидетельствуют о том, что для лечения больных семейной ГХС более перспективным является использование методов, позволяющих добиться более селективного удаления ЛПНП из плазмы крови.

Основываясь на наблюдениях Stoffel с соавт., предложивших метод ЛПНП-иммunoфереза для лечения больных семейной ГХС, были приготовлены колонки с моноспецифичными поликлональными антителами к ЛПНП, иммобилизованными на

сефарозе. Нами были изучено влияние однократных процедур и длительного курса (12-24 мес) ЛПНП-иммунофереза у 5 больных с данной наследственной аномалией.

В ходе этих исследований были подтверждены выводы Stoffel с соавт. о селективности метода ЛПНП-иммунофереза. Было установлено, что однократная процедура ЛПНП-иммунофереза позволяет добиться удаления apo-B содержащих липопротеидов. При этом происходило падение уровня содержания суммарного холестерина в плазме крови (на 21 -66%) и ХС-ЛПНП (в среднем на 45%). В то же время показатели содержания в крови ХС-ЛПВП под влиянием однократной процедуры ЛПНП-иммунофереза не изменялись.

Такой эффект однократных процедур ЛПНП-иммунофереза не является неожиданным. Селективность извлечения из крови атерогенных классов липопротеидов под влиянием ЛПНП-иммунофереза обусловлена взаимодействием антител, иммобилизованных на сепарозе, с apo-B содержащими липопротеидами.

Применение длительного курса ЛПНП-иммунофереза, как и ожидалось, существенно отразилось на показателях липидного и липопротеидного состава крови больных семейной ГХС. Было установлено, что через 12-24 месяца после применения ЛПНП-иммунофереза с частотой процедур один раз в 7-10 дней произошло снижение содержания холестерина в крови (на 34-51% по сравнению с исходными величинами). Падение уровня холестерина обусловлено селективным удалением только атерогенных классов липопротеидов: содержание ХС-ЛПВП в крови больных семейной ГХС за период применения многократных процедур ЛПНП-иммунофереза (40-80 процедур) не только не уменьшалось, но и даже возрастало.

Такие данные согласуются с наблюдениями Stoffel с соавт. (1981-

1985) и Parker и соавт. (1986). Они свидетельствуют о том, что ЛПНП-иммуноферез является патогенетически более обоснованным методом лечения больных семейной ГХС, чем плазмообмен.

Особого внимания, по нашему мнению, заслуживали выводы Borberg, Stoffel и Oeffe с соавт. (1986) о том, что применение ЛПНП-иммунофереза у больных семейной ГХС способствует регрессии уже имеющихся атеросклеротических изменений. На основании анализа контрольных и повторных коронарограмм цитируемыми авторами было показано увеличение просвета ранее стенозированных венечных артерий сердца у больных семейной ГХС после длительного (3-5 лет) курса процедур ЛПНП-иммунофереза.

Мы сочли целесообразным изучить правомерность предположения о значении ЛПНП-иммунофереза как метода индуцирующего регрессию атеросклеротических изменений. Для решения поставленной задачи были использованы подходы, основанные на изучении эффектов ЛПНП-иммунофереза на содержание холестерина и других классов липидов в атеросклеротической бляшке.

Ранее А.Н.Ореховым с соавт. (1982-1986) были разработаны методы получения органных короткоживущих культур интактной и атеросклеротически измененной интимы аорты человека. Группой, руководимой А.Н.Ореховым, были разработаны также методы культивирования клеток, выделенных из макроскопически измененной интимы и из атеросклеротической бляшки. Изучение морфологических и биохимических характеристик этих клеток позволили А.Н.Орехову с соавт. аргументировать положение о том, что клетки интимы аорты человека являются адекватной моделью для изучения механизмов атерогенеза. Действительно, клетки, выделенные из нормальной и атеросклеротически измененной интимы аорты человека сохраняют все свойства, свойственные им in

situ (Orehov et al, 1982-1986). Так, клетки, выделенные из атеросклеротической бляшки, отличаются от клеток неизмененной интимы повышенной способностью поглощать липиды, более высокой пролиферативной активностью и возрастанием скорости синтеза склеропротеинов.

Все вышеизложенное явилось основанием для использования органных культур атеросклеротической бляшки и выделенных из нее клеток для оценки антиатеросклеротического эффекта ЛПНП-иммunoфереза. В первую очередь представлялось целесообразным установить, отразиться ли применение ЛПНП-иммunoфереза на содержании липидов в атеросклеротической бляшке. Было установлено, что ЛПНП-иммunoферез культуральной жидкости приводит к резкому снижению содержания основных классов липидов в органной культуре атеросклеротической бляшки. Так, через 24 часа после перфузии культуральной жидкости через колонку с иммобилизованными на агарозе антителами к ЛПНП, содержание холестерина в культивируемой бляшке снизилось на 35%, триглицеридов - на 53%, эфиров холестерина - на 46%. Такие данные свидетельствуют о том, что с помощью ЛПНП-иммunoфереза можно добиться резорбции липидов из уже сформировавшихся атеросклеротических поражений.

Механизм, лежащий в основе антиатерогенного эффекта ЛПНП-иммunoфереза, не известен, однако полученные нами данные представляют определенный интерес. Они свидетельствуют о том, что положительная динамика в течение ишемической болезни сердца у больных с семейной ГХС под влиянием длительного курса применения ЛПНП-иммunoфереза обусловлена, по крайней мере, отчасти резорбией липидов из уже сформировавшихся атеросклеротических бляшек. Не исключено, что первичным звеном в цепи процессов, приводящих к регрессии атеросклеротических

изменений в венечных артериях сердца больных семейной ГХС является резорбция липидных отложений.

В целом результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности использования ЛПНП-иммunoфереза в комплексном лечении больных семейной ГХС.

Следует, однако, отметить, что повышение уровня ЛПНП в крови представляет собой патогномоничный симптом только для больных семейной ГХС (Лопухин Ю.М., Маркин С.С., 1983; Goldstein, Brown, 1977-1984). Предположение о том, что атеросклероз является следствием "избытка" циркулирующих ЛПНП не подтвердились ни в клинических (Чазов, 1981, 1985; Перова, 1982; Климов, 1977-1984; Levy, 1980), ни в экспериментальных (Wissler, 1979; Pometta, 1980) исследованиях. Так, большие надежды, возлагаемые на изучение липопротеидного состава крови в диагностике заболеваний, обусловленных атеросклерозом магистральных артерий, в целом не оправдались. Было также показано, что накопление липидов гладкомышечными клетками и макрофагами обусловлено не только возрастанием содержания ЛПНП в культуральной жидкости, но и другими факторами, которые интенсивно изучаются в последнее время (Chen, Fischer Dzoga, 1977; Bates et al., 1979; Wissler, 1979).

Такие данные позволяли предположить, что, наряду с липопротеидами низкой плотности в крови больных атеросклерозом имеются и другие факторы, способствующие накоплению липидов в клетках сосудистой стенки. Это предположение было подтверждено в условиях прямого эксперимента Ореховым с соавт. (Chazov et al., 1986; Tertov et al, 1986; Orekhov et al, 1987). Было установлено, что сыворотки крови больных ИБС с ангиографически верифицированным атеросклерозом коронарных артерий вызывают 2-5-кратное накопление холестерина в субэндотелиальных клетках интимы аорты человека. В то же время сыворотки, полученные из

крови здоровых лиц, при добавлении их в культуру к возрастанию уровня внутриклеточного холестерина, как правило, не приводили. В исследованиях, посвященных изучению механизмов, лежащих в основе этого феномена, было показано, что в крови больных ИБС с документированным атеросклерозом венечных артерий сердца присутствует фактор нелипопротеидной природы, обуславливающий способность "исходно не атерогенных" ЛПНП вызывать накопление липидов в культивируемых клетках (Orehov et al., 1987).

Такие данные легли в основу предположения о том, что не липидный фактор сыворотки, которые делает ЛПНП атерогенными, можно удалить из сыворотки, пропустив ее через колонку с иммобилизованными ЛПНП (Orehov et al., 1987). Нами были проведены исследования, доказывающие правомерность такого предположения.

Были приготовлены колонки с аутологичными ЛПНП, иммобилизованными на сефарозе. Перед применением метода афереза атерогенного фактора у больных были проведены исследования, результаты которых явились экспериментальным обоснованием целесообразности использования колонок с аутологичными ЛПНП для лечения ИБС.

На основании полученных данных было сделано заключение о том, что для устранения фактора атерогенности из плазмы крови больных ИБС целесообразно использовать сорбент с иммобилизованными аутологичными ЛПНП включенными в систему экстракорпорального кровообращения.

Перед назначением процедуры афереза атерогенного фактора необходимо было установить показания к применению этого метода. С этой целью было обследовано 97 здоровых лиц, 156 больных ИБС с ангиографически верифицированным атеросклерозом венечных артерий сердца и 12 больных с приступами стенокардии, не

обусловленными органическими поражениями венечных артерий (данные коронарографии). Изучалась способность сывороток, выделенных из крови этих трех групп обследованных, вызывать накопление холестерина в субэндотелиальных клетках интимы. Оказалось, что сыворотки большинства больных ИБС с ангиографически верифицированным атеросклерозом были атерогенными.

Сыворотки крови, полученные от двух других групп обследованных (здоровые лица и больные стенокардией без ангиографических признаков коронароатеросклероза), напротив, в большинстве случаев не вызывали при добавлении их в культуру накопления внутриклеточного холестерина.

Полученные данные явились основанием для заключения о том, что предложенный новый метод экстракорпоральной терапии аферез атерогенного фактора - показан лишь больным ИБС с выраженным атеросклеротическими изменениями венечных артерий сердца. При этом перед назначением данного метода обязательным диагностическим мероприятием должна быть проверка сыворотки больных на атерогенность. Очевидно, проводить аферез атерогенного фактора необходимо лишь в тех случаях, когда сыворотка обследуемого больного при добавлении ее в культуральную жидкость вызывает не менее, чем 2,5-кратное возрастание уровня холестерина в субэндотелиальных клетках макроскопически неизмененной интимы аорты человека.

Результаты экспериментов, в ходе которых было установлено, что исходно атерогенные сыворотки больных ИБС после их пропускания через колонку с иммобилизованными ЛПНП теряют способность вызывать накопление холестерина культивируемыми клетками аорты человека, легли в основу предположения о том, что метод афереза атерогенного фактора необходимо применять в

комплексном лечении больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий сердца.

Процедура афереза атерогенного фактора была выполнена у 4-х больных, сыворотки которых при первичном (до начала лечения) обследовании вызывали 2,5-3,5-кратное возрастание содержания холестерина. Это были мужчины в возрасте 46-59 лет, страдающие ИБС, с атеросклеротическими поражениями левой нисходящей, огибающей и правой коронарной артерий. Все четверо больных при поступлении в клинику предъявляли жалобы на приступы загрудинных болей. По данным клинико-инструментального обследования у них была диагностирована стенокардия II-III класса. По данным биохимического обследования, содержание холестерина в крови не превышало возрастных нормативов.

Изучение эффектов однократной процедуры афереза атерогенного фактора показало, что в результате двухчасовой экстракорпоральной перфузии плазмы крови через колонку с аутологичными ЛПНП у всех больных происходило резкое падение способности сывороток вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках (на 33-55% по сравнению с исходными величинами). На следующий день после процедуры атерогенность сывороток, полученных из крови больных ИБС, исчезала полностью. В дальнейшем сроки после проведения афереза атерогенного фактора (2-7 день после процедуры) способность сывороток вызывать накопление холестерина в культивируемых клетках постепенно восстанавливалась и через 7-15 дней этот показатель достигал исходного уровня. Повторная процедура, проведенная через неделю после первой, также приводила к резкому снижению атерогенности сывороток. Следует отметить, что вторая и третья процедуры снижали атерогенность на более длительный срок.

На основании полученных данных был разработан режим

проведения афереза атерогенного фактора. Поскольку показатели атерогенности не успевают за неделю возрасти существенно, было решено проводить процедуры афереза атерогенного фактора один раз в две-три недели. При таком режиме применения данного метода экстракорпоральной терапии показатели атерогенности плазмы больных ИБС в течение длительного времени находились на довольно низком уровне (115-143%).

Анализ результатов длительного курса применения процедуры афереза атерогенного фактора (12-18 месяцев с частотой процедур один раз в 15-20 дней) свидетельствует о терапевтической эффективности этого метода. Так, за период лечения у всех больных улучшилось клиническое состояние, уменьшилось число и снизилась степень выраженности приступов стенокардии. По данным клиникоинструментального обследования у 2-х больных, у которых при поступлении была диагностирована стенокардия III класса, после длительного курса афереза атерогенного фактора имела место стенокардия II-го функционального класса. По данным велоэргометрического исследования после многократных процедур афереза атерогенного фактора имела место стенокардия II-го функционального класса. По данным велоэргометрического исследования после многократных процедур афереза атерогенного фактора возросла толерантность к физическим нагрузкам и увеличилась мощность пороговой нагрузки.

Такие данные свидетельствуют о целесообразности применения метода афереза атерогенного фактора у больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом.

Экстракорпоральные методы терапии, целесообразность применения которых у больных семейной ГХС и пациентов с атеросклерозом венечных артерий, не обусловленным генетическими аномалиями в системе липопротеидов, доказана представленными

выше данными, не исключают необходимости и более традиционного подхода - использования фармакологических препаратов. К настоящему времени достигнуты значительные успехи в создании мощных гиполипидемических средств (Tobert, 1982; Bilheimer et al., 1983; Paoletti et al., 1983; Levy, 1986). По-видимому, применение препаратов с выраженной антиатерогенной активностью на фоне применения методов экстракорпоральной терапии позволило бы добиться более выраженного лечебного эффекта. Кроме того, при использовании методов фармакотерапии может появиться возможность уменьшения частоты выполнения процедур ЛПНП-иммunoфереза и афереза атерогенного фактора, эффекты которых, как было показано, кратковременны.

Следует, однако, отметить, что, не отрицая важности применения гиполипидемических средств, существенный прогресс в терапии заболеваний, связанных с атеросклеротическими изменениями артерий, может быть достигнут лишь при применении лекарственных средств, обладающих прямой антиатеросклеротической активностью.

Ранее Ореховым и соавт. (Orekhov et al., 1985; Tertov et al., 1986) было показано, что для выяснения прямого антиатеросклеротического действия фармакологических препаратов, широко применяющихся в кардиологической практике, целесообразно изучать их эффекты на основные проявления атеросклероза: накопление липидов и пролиферативную активность. Цитируемые авторами для этой цели были использованы первичные культуры клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека и органные культуры атеросклеротической бляшки.

Мы сочли целесообразным использовать этот же методический подход для изучения прямого антиатеросклеротического действия препаратов, которые могли бы найти применение в комплексном

лечении больных семейной ГХС и пациентов с коронарным атеросклерозом на фоне используемых экстракорпоральных методов лечения.

Прежде всего, казалось необходимым изучить влияние липостабила (препарата, в состав которого входят эссенциальные фосфолипиды) (Hevelke et al., 1975; Lekim, Graf, 1976; Samochowiec, 1976) на содержание холестерина в первичных культурах и органной культуре атеросклеротической бляшки. Было установлено, что добавление липостабила в культуральную жидкость в концентрации 250 мкг/мл вызывает резкое снижение содержание холестерина в клетках, выделенных из атеросклеротически измененных аорт. Добавление липостабила в этой же концентрации (250 мкг/мл) к органным культурам также приводило к снижению содержания в них холестерина.

Такие данные позволяют предположить, что липостабил, наряду с хорошо доказанным для этого препарата гиполипидемическим эффектом (Blaton, 1978) может оказывать и прямое антиатеросклеротическое действие. Как известно, при использовании липостабила возрастаает скорость этерификации холестерина под действием ЛХАТ (Ehrly, 1976; Paoletti et al., 1983). Предполагают, что на фоне использования липостабила активизируются процессы акцепции холестерина из мест его накопления (атеросклеротическая бляшка) и увеличивается скорость обратного транспорта этого соединения в составе ЛПВП (Bilheimer et al., 1983). Полученные нами данные согласуются с таким предположением и могут служить еще одним доказательством целесообразности применения липостабила при заболеваниях, обусловленных атеросклеротическими изменениями артерий.

К препаратам, также получившим широкое применение в кардиологических клиниках, относятся бета-адреноблокаторы. Их

используют в качестве средств симптоматической терапии при ишемической болезни сердца. Однако, наряду с их лечебным действием бета-адреноблокаторы изменяют липидный состав крови (Weidman et al., 1983; Zanchetti et al., 1986; Leren et al., 1987). Предполагают, что побочным эффектом бета-адреноблокаторов является индукция атеросклеротических изменений в артериях.

Это предположение получило подтверждение в проведенных нами экспериментах. Оказалось, что такие широко применяющиеся препараты, как пропранолол, альпренолол, метапролол, атенолол, пиндолол и тимолол, вызывают при их добавлении в культуральную жидкость возрастание содержания внутриклеточного холестерина и увеличение пролиферативной активности субэндотелиальных клеток интимы. Поскольку основными проявлениями атеросклероза являются увеличение числа клеток и накопление в них липидов, обнаруженные нами эффекты могут рассматриваться как доказательство прямого атерогенного действия бета-адреноблокаторов.

Определенную практическую значимость могут иметь и выводы, сделанные нами на основании изучения действия антагониста кальция на клетки атеросклеротической бляшки. Было установлено, что верапамил в концентрации 10^{-5} М и выше ингибировал пролиферацию в первичной культуре интимальных клеток аорты человека. Минимальной концентрацией, вызывающей максимальное (почти десятикратное) подавление включения НЗ-тимицина, оказалась 5×10^{-5} М. В этой концентрации верапамил за 48 часов инкубации с клетками аорты вызывал значимое снижение содержания фосфолипидов (на 35%), триглицеридов (на 25%) и эфиров холестерина (на 23%).

Такие данные свидетельствуют о том, что верапамил способен воздействовать на основные проявления атеросклероза на клеточном

уровне.

Мы не считаем, что на основании первичных данных по скриннингу можно делать окончательные заключения о фармакологическом действии исследованных препаратов. Не исключено, однако, что некоторые соединения, которые проявили антиатеросклеротическую активность в первичном скрининге, могут представлять интерес как потенциальные антиатеросклеротические препараты.

Результаты, представленные в гл. 4-6 настоящей работы, свидетельствовали о перспективности методов экстракорпоральной терапии в лечении больных семейной ГХС и пациентов с ишемической болезнью сердца. Было также показано, что как при применении ЛПНП-иммунофереза, так и при использовании метода афереза атерогенного фактора эффекты, которые могут быть достигнуты с помощью этих методов, кратковременны. Для достижения лечебного действия, в связи с этим, необходимо частое (1 раз в 7-10 дней) повторение экстракорпоральных процедур. Не исключено, что использование фармакологических средств с выраженным антиатерогенным эффектом позволит не только добиться уменьшения краткости этих процедур, но и будет способствовать возрастанию скорости процессов обратного развития атеросклеротических бляшек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Agassandian M., Mallampalli R.K. Surfactant phospholipid metabolism. // Biochim. Biophys. Acta. - 2013. – V. 1831. - P. 612-25.
- Aliev G., Castellani R.J., Petersen R.B., Burnstock G., Perry G., Smith M.A. Pathobiology of familial hypercholesterolemic atherosclerosis. // J. Submicrosc. Cytol. Pathol. - 2004. – V. 36. - P. 225-40.
- Alonso R., Mata P. Zambón D., Mata N., Fuentes-Jiménez F. Early diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia: improving patient outcomes. // Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. - 2013. – V. 11. - P. 327-42.
- Antoniades C., Psarros C., Tousoulis D., Bakogiannis C., Shirodaria C., Stefanadis C. Nanoparticles: a promising therapeutic approach in atherosclerosis. // Curr. Drug. Deliv. - 2010. – V. 7. - P. 303-11.
- Apstein C.S., Lilversmit D.B., Lees R., George P.K. Effect of intensive plasmapheresis on the plasma cholesterol concentration with Familial Hypercholesterolemia // Atherosclerosis. - 1978. - V.31. – P.105-115.
- Avaranis C. The classic risk-factors for coronary heart disease: experience in Europe // Prev. Med.- 1983. V.I2, N I.- P.16-19.
- Avis H.J., Hutten B.A., Twickler M.T., Kastelein J.J., van der Post J.A., Stalenhoef A.F., Vissers M.N. Pregnancy in women suffering from familial hypercholesterolemia: a harmful period for both mother and newborn? // Curr. Opin. Lipidol. - 2009 Dec. – V. 20. - P. 484-90.
- Badimon J.J., Ibanez B., Cimmino G. Genesis and dynamics of atherosclerotic lesions: implications for early detection. // Cerebrovasc. Dis. - 2009. – V. 27 Suppl 1. - P. 38-47.
- Badimon L., Storey R.F., Vilahur G. Update on lipids, inflammation and atherothrombosis. Thromb Haemost. - 2011. – V. 105 Suppl 1. - P. S34-42.

- Badimon L., Vilahur G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos. // Ann. N. Y. Acad. Sci. - 2012. - V. 1254. - P. 18-32.
- Balci B. The modification of serum lipids after acute coronary syndrome and importance in clinical practice. // Curr. Cardiol. Rev. - 2011. - V. 7. - P. 272-6.
- Barnett J., Viljoen AIO, Wierzbicki A.S. The need for combination drug therapies in patients with complex dyslipidemia. // Curr. Cardiol. Rep. - 2013. - V. 15. - P. 391.
- Bates S.R. Accumulation and loss of cholesterol esters in monkey arterial smooth muscle cells exposed to normal and hyperlipemic serum lipoproteins // Atherosclerosis. - 1979. - N 32. - P.165-176.
- Bates S.R. and Wissker R.W. Effect of hyperlipemic serum on cholesterol accumulation in monkey aortic medial cells // Biochem. Biophys. Acta. - 1976. - N 450. - P.78-88.
- Bates S.R. Cholesterol accumulation in the arterial cells and in the extracellular space // Artery. - 1979. - N 5.-P. 362-376.
- Bays H.E., Goldberg R.B. The 'forgotten' bile acid sequestrants: is now a good time to remember? // Am. J. Ther. - 2007. - V. 14. - P. 567-80.
- Bedditt E.P., Barrett T., McDougall J.K. Viruses in the ethiology of atherosclerosis // PNAS. - 1983. - V.80. - P.6386-6389.
- Benditt E.P. and Benditt J.M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques (glucose-6-phosphate dehydrogenase) heterozygotic females/aorta) // Proc-Hat. Acad. Sci. - 1973. - N 70. - P.1753-1756.
- Berger G.M.B. High-density lipoprotein in the Prevention of Atherosclerotic Heart Disease. Part I. Epidemiological end Family Studies // S. Afr. med. J. - 1978. - V.54, H 17. - P. 689-693.

- Berger G.M.B., Miller J.L., Bonnici F. et al. Continuous flow plasma exchange in the treatment of homozygous familial hypercholesterolemia // Am.J. Med. - 1978. - N 65 - P.243-351.
- Berger M.B., Bonnici F., Joffe H.S. et al. Plasma exchange in the treatment of familial hypercholesterolemia // A.M.Gotto, Jr., L.C. Smith and B.Allen (Eds.). Atherosclerosis V, Springer-Verlag, Berlin, 1980. - P.458- 461.
- Bilheimer D.W., Grundy S.M., Brown M.S., Goldstein J.L. Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of LDL from plasma in familial hypercholesterolemic heterozygotes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1983. - V.80. - P.4124-4128.
- Blackburn H. Atherosclerosis and coronary heart disease. Strategy for change: a population approach to prevention // Atherosclerosis / Ed. by Fidge N.H. and P.J. Nestel. - 1986. - V.11. - P. 15-29.
- Blaton V. The Effect of "Essential" Phospholipids on Plasma Lipid and Fatty Acids in Hyperlipidemia // Verh. d. Dtsch. Ges. f. inn. Med. 78. - 1978. - N 78. - S.382-390.
- Bonora V., Calalabuig J.R., Caviola E., Soler J. et al. Treatment of hyperlipoproteinemia. Types II and IV, with pirifibrate: One hundred observations // Clin. Ther. - 1981. - V.4, N 3. - P.192-200.
- Borberg H. The development of an automated therapeutic immunoabsorption system using the LDL-apheresis model // Europ. J .Clin. Invest. - 1983. - V.I3, N 13 (Part II). - P.A39.
- Borberg H., Jaczkowski A., Homback V. et al. Regression in patients with familial hypercholesterolemia type II A under Longterm LDL Apheresis // 1st International Congress of the World Apheresis Association, Japan 1986, SV-3, P.70.
- Borberg H., Stoffel W., Qette K. The development of specific plasmaimmunoabsorption // Plasma Ther. Transfus. Tech- nol. - 1983. - N 4. - P.459-466.

- Bour H. Traitement medical des hyperlipidemies atherogenes. // Concours. med. - 1975. - V.97, N 5. - P.695-700.
- Bowen M.S., Kolor K., Dotson W.D., Ned R.M., Khouri M.J. Public health action in genomics is now needed beyond newborn screening. // Public. Health. Genomics. - 2012. - V. 15. - P. 327-34.
- Brook J.G., Winterstein G., Aviram M. Platelet function and lipoprotein levels after plasma exchange in patients with familial hypercholesterolemia // Clin. Sci. - 1983. - N 64. P. 637-640.
- Brown B.G., Zhao X.Q., Chait A., et al. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. // N. Engl. J. Med., 2001, 345(22), pp. 1583-1592.
- Brown M.S., Goldstein J.L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. // Science. 1986. - V. 232(4746). - P. 34-47.
- Brown H.B. Diet and serum lipids controlled studies in the United States // Prev. Med. 1983. V. 12, N 1, - P. 103-109.
- Buchwald H. Lowering of cholesterol absorption and blood levels by ideal exclusion // Circulation. - 1964. - V. XXIX. - P. 713-720.
- Buchwald H., Moore R.B., Varco R.L. Surgical treatment of hyperlipidemia. - // Circulation. - 1974. - Suppl. I,N 49 - P. 1-37.
- Burchardt P., Zurawski J., Zuchowski B., Kubacki T., Murawa D., Wiktorowicz K., Wysocki H. Low-density lipoprotein, its susceptibility to oxidation and the role of lipoprotein-associated phospholipase A2 and carboxyl ester lipase lipases in atherosclerotic plaque formation. // Arch. Med. Sci. - 2013 Feb 21. - V. 9. - P. 151-8.
- Carlson L.A., Danielson M., Ekberg I. Reduction of myocardial reinfarction by the combined treatment with clofibrate end nicotinic acid // Atherosclerosis. - 1977. - V. 28. - P. 81-86.
- Carvallo A.C., Colman R.W., Lees R.S. Platelet function in hypercholesterolemia // N E J Med.- 1974. - N 290. - P. 434-438.

- Chadwick A.C., Sahoo D. Functional genomics of the human high-density lipoprotein receptor scavenger receptor BI: an old dog with new tricks. // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes. - 2013. – V. 20. - P. 124-31.
- Chazov E.I., Orekhov A.H., Perova N.V. et al. Atherogenicity of blood serum from patients with coronary heart disease. // Lancet. - 1986 - V.II, N 8507. - P.595-597.
- Chazov E.I., Repin V.S., Orekhov A.N., Antonov A.S., Preobrazhensky S.N., Smirnov V.N. What has been learnt studing human arteries // Atherosclerosis Rev. - 1986. - V. 14. - P. 7-60.
- Chen L.J., Wei S.Y., Chiu J.J. Mechanical regulation of epigenetics in vascular biology and pathobiology. // J. Cell. Mol. Med. - 2013. – V. 17. - P. 437-48.
- Chen R.M., Fischer-Droga K. Effect of hyperlipemic serum lipoproteins on the lipid accumulation and cholesterol flux of rabbit aortic medial cells // Atherosclerosis .-1977. - N 28. - P. 339-353.
- Chhabria M.T., Mahajan B.M. Update on patented cholesterol absorption inhibitors. // Expert. Opin. Ther. Pat. - 2009. – V. 19. - P. 1083-107.
- Chi Y.W., Osinbowale O., Milani R. Genetic association studies in peripheral arterial disease. // J. La. State. Med. Soc. - 2011. – V. 163. - P. 30-4, 36-7, 39.
- Chien K.L., Lin Y.L., Wen H.C., Lin H.P., Yen C.T., Lin S.W., Kao J.T. Common sequence variant in lipoprotein lipase gene conferring triglyceride response to fibrate treatment. // Pharmacogenomics. - 2009. – V. 10. - P. 267-76.
- Chin D.J., Lusker K.L., Faust J.R. et al. Molecular cloning of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA-reductase and evidence for regulation of its mRNA // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1982. - V. 79. - P.7704-7708.
- Choluj B., Votruba T. Hyperlipidemia, dyslipoproteinemia and apolipoproteinopathia--classification and risk of atherosclerosis. Part

- 2: Hypercholesterolemia. // Acta. Univ. Carol. Med. (Praha). 1991. – V. 37. - P. 106-15
- Cucuiaru M., Coca M., Hâncu N. Reverse cholesterol transport and atherosclerosis. A mini review. // Rom. J. Intern. Med. - 2007. – V. 45. - P. 17-27.
- Cummings K.D., Kornfeld St., Schneider W.J. et al. Biosynthesis of N-and O-linked oligosaccarides of the Low Density Lipoprotein Receptor // J. of Biological Chemistry. – 1983 - V. 258, N 24. - P. 15261-15273.
- Curry M.D., Alaupovic P., Suenran R. Determination of apolipoprotein A and its constitutive A-I and A-II polypeptides by separate electroimmunoassay // Clin. Chem. - 1976. - N 22. - P. 315-322.
- Dabels J., Preussner S., Braher P., Wilmbusse H. Plasmaaustausch als neues Behandlungsverfahren der homozygoten familiären Hypercholesterolemie // Dtsch.-Gesundh-Wesen. - 1982 - V.37, N 4. - S. 165-168.
- Davidson M.H. Novel nonstatin strategies to lower low-density lipoprotein cholesterol. // Curr. Atheroscler. Rep. - 2009. – V. 11. - P. 67-70.
- Defesche J.C., Lansberg P.J., Umans-Eckenhausen M.A., Kastelein J.J. Advanced method for the identification of patients with inherited hypercholesterolemia. // Semin. Vasc. Med. - 2004. – V. 4. - P. 59-65.
- DeGennes J.-L., Touraine R., Maunand B. et al. Formes homosygotes cutaneo-tendinenses de xanthomatose hypercholesterolemique dans une observation familiale exemplaire. Essai de plasmapherese a titre de traitement heroique. // Bull. Med. Mem. Soc. Hop. Paris. - 1967. - N 118. - P. 1377-1402.
- DeLoof H., Rosseneu M., Brausseur R., Ruysschaert J.M. Use of hydrophobicity profiles to predict receptor binding domains on apolipoprotein E and the low density lipoprotein apolipoprotein B-E receptor // Proc.Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - V.83.- P. 2295-2299.

- Dessì M., Noce A., Bertucci P., Manca di Villahermosa S., Zenobi R., Castagnola V., Addessi E., Di Daniele N. Atherosclerosis, Dyslipidemia, and Inflammation: The Significant Role of Polyunsaturated Fatty Acids. // I.S.R.N. Inflamm. - 2013. – V. 2013. - P. 191823.
- Di Minno G., Silver M.J., Cerbone A.M. et al. Increased fibrinogen binding to platelets from the patients with familial hypercholesterolemia. // Arteriosclerosis. - 1986. - N 6. - p. - 203-211.
- Di Pietro M., Filardo S., De Santis F., Sessa R. Chlamydia pneumoniae infection in atherosclerotic lesion development through oxidative stress: a brief overview. // Int. J. Mol. Sci. - 2013. – V. 14. - P. 15105-20.
- Domenech J.S., Oroz S. An approach to antiarteriosclerotic pharmacology. Lipid metabolism and pathology // Proc. Intern. Colloq. - 1985, Lisben, 1985, N.Y. – London.
- Drakopoulou M., Toutouzas K., Stefanidis C. Novel pharmacotherapies of familial hyperlipidemia. // Pharmacol. Ther. - 2013. – V. 139. - P. 301-12.
- Dujovne C.A., Azarnoff D.L., Pentikainen P. et al. A comparative trial of clofibrate and nicotinyl alcohol tartrate in hyperlipoproteinemic patients // Amer. J. Med. Sci. – 1979. - V. 277, N 3. - P. 255-261.
- Ehrly A.M. Influence of “essential” phospholipids on the flow properties of the blood // Phosphatidylcholine, ed. By H. Peeters, Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York. - 1976.
- Eren E., Yilmaz N., Aydin O. High Density Lipoprotein and it's Dysfunction. // Open. Biochem. J. - 2012. – V. 6. - P. 78-93.
- Etta M., King E., Breslow J.L., Lees R.S. Plasmapheresis therapy of homozygous familial hypercholesterolemia // New Engl. J. Med. - 1980. - V.302, N 26. - P. 1457-1459.

- Ewang-Emukowhate M., Wierzbicki A.S. Lipid-lowering agents. // J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther. - 2013. - V. 18. - P. 401-11.
- Faiz F., Hooper A.J., van Bockxmeer F.M. Molecular pathology of familial hypercholesterolemia, related dyslipidemias and therapies beyond the statins. // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. - 2012. - V. 49. - P. 1-17.
- Falk E., Nakano M., Bentzon J.F., Finn A.V., Virmani R. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. // Eur. Heart. J. - 2013. - V. 34. - P. 719-28.
- Farnier M., Bruckert E. Severe familial hypercholesterolaemia: current and future management. // Arch. Cardiovasc. Dis. - 2012. - V. 105. - P. 656-65.).
- Félix-Redondo F.J., Grau M., Fernández-Bergés D. Cholesterol and cardiovascular disease in the elderly. Facts and gaps. // Aging. Dis. - 2013. - V. 4. - P. 154-69.
- Findeisen H.M., Kahles F.K., Bruemmer D. Epigenetic regulation of vascular smooth muscle cell function in atherosclerosis. // Curr. Atheroscler. Rep. - 2013. - V. 15. - P. 319.
- Fischer S., Schatz U., Julius U. Current standards in diagnosis and therapy of hyperlipoproteinemia. // Atheroscler. Suppl. - 2013. - V. 14. - P. 15-8.
- Fitzgerald M.L., Mujawar Z., Tamehiro N. ABC transporters, atherosclerosis and inflammation. // Atherosclerosis. - 2010. - V. 211. - P. 361-70.
- Forman V., Baker S.G., Mieny C.J. et al. Treatment of homozygous familial hypercholesterolaemia with portcaval shunt. // Atherosclerosis. - 1982. - V.41, N 2/3. - P. 349-361.
- Frostegård J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. // B.M.C. Med. - 2013. - V. 11. - P. 117.
- Gargiulo G., Giugliano G., Brevetti L., Sannino A., Schiattarella G.G., Serino F., Carbone A., Scudiero F., Ferrone M., Corrado R., Izzo R.,

- Chiariotti L., Perrino C., Amato B., Trimarco B., Esposito G. Use of statins in lower extremity artery disease: a review. // B.M.C. Surg. - 2012. - V. 12 Suppl 1. - P. S15.
- Geer J.C., Haust M.D. Identification of cells in atherosclerotic lesions: A historical review. Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis. // Monographs on Atherosclerosis. Vol. 2, Basel, Karger. - 1972. - P. 4-26.
- Ghattas A., Griffiths H.R., Devitt A., Lip G.Y., Shantsila E. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? // J. Am. Coll. Cardiol. - 2013. - V. 62. - P. 1541-51.
- Goldberg A., Melton W.S., Witiak D.T., Feller D.R. Comparison of hypocholesterolemic activity for cyclic analogs of clofibrate in normolipemic rats // Atherosclerosis. - 1977. - V. 27, N 1. - P. 15-25.
- Goldberg I.J., Bornfeldt K.E. Lipids and the endothelium: bidirectional interactions. // Curr. Atheroscler. Rep. - 2013. - V. 15. - P. 365.
- Goldstein J., Brown M. Atherosclerosis: the low-density lipoprotein receptor hypothesis // Metabolism. - 1977. - V.26.- P. 1257-1275.
- Goldstein J., Brown M. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia // J. Biol. Chem. - 1974. - V. 249. -P. 5153-5162.
- Goldstein J., Brown M. Lipoprotein receptors, cholesterol metabolism and atherosclerosis // Arch. Path. - 1975. - V. 99. - P. 181-184.
- Goldstein J., Brown M. The LDL receptor locus and the genetics of familial hypercholesterolemia // Ann. Rev. Gen. - 1979. - V.I3. - P. 259-289.
- Goldstein J., Schrott H.G., Hazzard W.R. et al. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and

delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia // J.Clin. Invest. - 1973. - V. 52. - P. 1544-1568.

Goldstein J.L. Brown M.S. Familial hypercholesterolemia. // The metabolic basis of inherited disease (Ed. by Stanbury J.B. et al.). - McGraw-Hill Book Co., 1983, N.Y. - P.672-7I3.

Goldstein J.L., Brown M.S. Familial hypercholesterolemia. A genetic regulatory defect in cholesterol metabolism // Am. J. Med. - 1975. - V. 58, N 2. - P. 147-150.

Goldstein J.L., Brown M.S. Familial hypercholesterolemia: pathogenesis of a receptor disease. // The John Hopkins Medical Journal. - 1978. - N 143. - P.8-16.

Goldstein J.L., Brown M.S. Progress in understanding the LDL receptor and HMG-CoA reductase, two membrane proteins that regulate the plasma cholesterol // J. Lipid Res. - 1984. - V.25.- P. 1450-1461.

Goldstein J.L., Brown M.S. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis // Ann. Rev. Bio- chem. - 1977. - V. 46. - P. 897-930.

Goldstein J.L., Dana J.E., Brown M.S. Esterification of low density lipoprotein cholesterol in human fibroblasts and its absence in homozygous familial hypercholesterolemia // Proc. Nat. Acad. Sci. - 1974. - V. 71, - P. 4288-4293.

Goldstein J.L., Dana S.E., Brunchede G.V. et al. Genetic heterogeneity in familial hypercholesterolemia: evidence for two different mutations effecting functions of low density lipoprotein receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1975. - V.72. - P. 1092.

Goldstein J.L., Ho Y.K., Basu S.K., Brown M.S. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1979. - V. 76. - P. 333-337.

- Goldstein J.L., Kita T., Brown M.S. Defective lipoprotein receptors and atherosclerosis: lesions from an animal counterpart of familial hypercholesterolemia // N. Engl. J. Med.- 1983. - V. 309. - P. 288-296.
- Goldstein J.L., Anderson R.G., Brown M.S. Receptor-mediated endocytosis and the cellular uptake of low density lipoprotein. // Ciba. Found. Symp. 1982. - V. - P. 77-95.
- Goldstein J.L., Anderson R.G.W., Brown M.S. Coated pits, coated vesicles and receptor-mediated endocytosis. // Nature. - 1979a. - Vol. 279. - P. 679-685.
- Goldstein J.L., Brown M.S., Anderson R.G., Russell D.W., Schneider W.J. Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. // Annu. Rev. Cell. Biol. 1985. - V. 1. - P. 1-39.
- Goldstein J.L., Brown M.S. Lipoprotein receptors and the control of plasma LDL cholesterol levels. // Eur. Heart. J. 1992. - V. 13 Suppl B. - P. 34-6.
- Goldstein J.L., Brown M.S. Regulation of low-density lipoprotein receptors: implications for pathogenesis and therapy of hypercholesterolemia and atherosclerosis. // Circulation. 1987. - V. 76. - P. 504-7.
- Goldstein J.L., Ho Y.K., Basu S.K., Brown M.S. Binding site of macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low-density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.-1979b.-Vol.76.-P.333-337.
- Gotto A.M. Directions of atherosclerosis research in the 1980s and 1990s // Circulation., 1984. - V.70. - Suppl.III. - P.III-88-III-94.
- Gotto A.M. High density lipoproteins: biochemical and metabolic factors // Amer. J. Cardiol. - 1983. - V.52. - P. 2B-4B.
- Gotto A.M. Status report. Plasma lipids, lipoproteins and coronary artery disease // Atheroscler. Rev. - 1979. - V.4. - P. 17-29.

- Haust M.D. Atherosclerosis - Lesions and Seguella. // Cardiovasc. Pathol. - New York. - 1984. - P.191-294.
- Haust M.D. Light and electron microscopy of human atherosclerotic lesions // Adv. Exp. Med. Biol . - 1978. - V.104. - P. 33-72.
- Havel R.J. Treatment of hyperlipidemia: where do we stand // Amer. J. Med. - 1982. - V. 73. - P. 301-304.
- Hennessey J.V., Scherger J.E. Evaluating and treating the patient with hypothyroid disease. // J. Fam. Pract. - 2007. - V. 56(8 Suppl Hot Topics). - P. S31-9.
- Hersberger M., von Eckardstein A. Modulation of high-density lipoprotein cholesterol metabolism and reverse cholesterol transport. // Handb. Exp. Pharmacol. - 2005. - P. 537-61.
- Hevelke G. Zur Wirkung "essentieller" Phospholipide auf den Blutfettgehalt des Menschen // Pol. Angiol. - 1972. - Suppl VI. - P. 80-87.
- Hevelke G., Hogn Th., Haase H., Bohlau V. Ergebnisse einer multizentrischen Studie mit Lipostabil // Med. Welt.- 1980. - Bd. 3., N 16. - S. 598-602.
- Holdt L.M., Teupser D. From genotype to phenotype in human atherosclerosis--recent findings. // Curr. Opin. Lipidol. - 2013. - V. 24. - P. 410-8
- Hopkins P.N. Molecular biology of atherosclerosis. // Physiol. Rev. - 2013. - V. 93. - P. 1317-542.
- Hovingh G.K., Davidson M.H, Kastelein J.J., O'Connor A.M. Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolaemia. // Eur. Heart. J. - 2013. - V. 34. - P. 962-71.
- Imes C.C., Austin M.A. Low-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein B, and risk of coronary heart disease: from familial hyperlipidemia to genomics. // Biol. Res. Nurs. - 2013. - V. 15. - P. 292-308.

- Jacotot B. Aspects biochimiques et experimentaux de la pharmacologie des medicaments hypolipidemiants // Sem. Hop. Paris. - 1979. - V. 55, N 41-42. - P. 1947-1955.
- Jashari F., Ibrahim I., Nicoll R., Bajraktari G., Wester P., Henein M.Y. Coronary and carotid atherosclerosis: similarities and differences. // Atherosclerosis. - 2013. - V. 227. - P. 193-200.
- Jee S.H., Jo J. Linkage of epidemiologic evidence with the clinical aspects of metabolic syndrome. // Korean. Circ. J. - 2012. - V. 42. - P. 371-8.
- Jensen H.K. The molecular genetic basis and diagnosis of familial hypercholesterolemia in Denmark. // Dan. Med. Bull. - 2002. - V. 49. - P. 318-45.
- Jeppesen J. Triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol, and risk of ischemic heart disease: a view from the Copenhagen Male Study. // Metab. Syndr. Relat. Disord. - 2003. - V. 1. - P. 33-53.
- Jones J.L., Lakasing E., Archontakis S. Familial hypercholesterolaemia: different perspectives. // Nurs. Stand. - 2009. - V. 23. - P. 35-8.
- Jones K.W. Do patients on statins also need niacin? JAAPA. - 2013. - V. 26. - P. 9-10.
- Joy TR. Novel therapeutic agents for lowering low density lipoprotein cholesterol. // Pharmacol. Ther. - 2012. - V. 135. - P. 31-43.
- Julve J., Llaverias G., Blanco-Vaca F., Escolà-Gil J.C. Seeking novel targets for improving in vivo macrophage-specific reverse cholesterol transport: translating basic science into new therapies for the prevention and treatment of atherosclerosis. // Curr. Vasc. Pharmacol. - 2011. - V. 9. - P. 220-37.
- Kalanuria A.A., Nyquist P., Ling G. The prevention and regression of atherosclerotic plaques: emerging treatments. // Vasc. Health. Risk. Manag. - 2012. - V. 8. - P. 549-61.
- Kane J., Mahley M. Treatment of hypercholesterolemia // Med. Clin. N. Amer. - 1982. - V. 66, N 2. - P. 537-550.

- Kasaniemi Y.A., Grundy S.M. Influence of probucol and cholesterol and lipoprotein metabolism in man // J. Lipid Res. – 1984. – V. 25. - P. 780-790.
- Kataoka Y., Uno K., Puri R, Nicholls S.J. Current imaging modalities for atherosclerosis. Expert Rev Cardiovasc Ther. - 2012. – V. 10. - P. 457-71.
- King M.E., Breslow J.L., Lees R.S. Plasma exchange therapy of homozygotes familial hypercholesterolemia // N E J Med. - 1980. - V. 302. - P. 1457-1459.
- Knoff T.J., Rall S.C., Innerarity T.L. et al. Human apolipoprotein B: Structure of carboxyl-terminal domains, sites of gene expression and chromosomal localization // Science. - 1985. - V. 230. - P. 37-56.
- Koenen R.R., Weber C. Chemokines: established and novel targets in atherosclerosis. // E.M.B.O. Mol. Med. - 2011. – V. 3. - P. 713-25.
- Kosykh V.A., Preobrazhensky S.N., Fuki I.V. et al. Cholesterol can stimulate secretion of apoprotein B by cultured human hepatocytes. // Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - V. 136.- P. 385-389.
- Krushinsky A.V., Orekhov A.N., Smirnov V.N. Stellate cells in the intima of human aorta: Application of alkaline dissociation method in the analysis of the vessel wall cellular content // Acta Anat. – 1983. - V. 117. - P. 266-269.
- Kruth H.S. Receptor-independent fluid-phase pinocytosis mechanisms for induction of foam cell formation with native low-density lipoprotein particles. // Curr. Opin. Lipidol. - 2011. – V. 22. - P. 386-93.).
- Lakey W.C., Greyshock N., Guyton J.R. Adverse reactions of Achilles tendon xanthomas in three hypercholesterolemic patients after treatment intensification with niacin and bile acid sequestrants. // J. Clin. Lipidol. - 2013. – V. 7. - P. 178-81.

- Lamberts S.W., Langeveld C.H, Vandenbroucke J.P. Population screening for single genes that codetermine common diseases in adulthood had limited effects. // J. Clin. Epidemiol. - 2006. - V. 59. - P. 358-64.
- Laurell C. Electroimunoasay // Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 1977. - V.29. - P. 21-37.
- Law S.W., Lee N., Monge J.C., Brewer H.B. Human apo-B-100 gene resides in the p23pter region of chromosome 2 // Biochem. Biophys. Res. Comm. - 1986. - V. 131. - P. 1003-1012.
- Lekim D., Graf E. Tierexperimentelle Studien zur Pharmakokinetik der "essentiellen" Phospholipide (EPL) // Arzneimittel-Forsch. - 1976. - V. 26, N 9a. - P. 1772-1782.
- Leren P. Comparison of effects on lipid metabolism of antihypertensive drugs with alpha- and beta-adrenergic antagonist properties // Am. J. Med. - 1987. - V.82. - P. 31-35.
- Levy R.I. Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemas / Pharmacological basis of therapeutics // Ed. by Gilman A.G., Goodman L.S., Gilman A.G. - 1980, N.Y., Macmillan. - 834-847.
- Levy R.I. Risk factor intervention trials, what have we learnt. An overview / Atherosclerosis // ed. by Fidge N.H. and P.J. Nestel). - 1986. - V. 11. - P. 5-7.
- Lewis B., Schettler G. Opinion report. Vox populi: A survey of the views of a sample of the membership of the International Atherosclerosis Society on coronary heart disease // Atherosclerosis. - 1983. - V. 47. - P. 107-110.
- Leytin V.L., Liubimova E.V., Sviridov D.D. et al. Time response changes in the thrombogeneity of platelets spread on a collagen-coated surfaces // Thromb. Res. - 1980. - V. 20. - P.335- 341.
- Libby P., Lichtman A.H., Hansson G.K. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans. // Immunity. - 2013. – V. 38. - P. 1092-104.

- Lindgren F.T. Preparative ultracentrifugal laboratory procedures and suggestions for lipoprotein analysis. / Perkins E.G., ed. Analysis of lipids and lipoproteins // American Oil Chemical Society. - 1975. - P. 205-224.
- Lowry O.H., Rosenbrough H.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenon reagent. // J. Biol. Chem. - 1951. - V. 193. - P. 265-275.
- Lupien P.J., Moorgani S., Awad J. A new approach to the management of familial hypercholesterolemia. Removal of plasma cholesterol based on the principle of affinity chromatography // Lancet. - 1976. - V. 1. - P. 1261-1265.
- Lupien P.J., Moorjani S., Brun D. et al. Removal of cholesterol from blood by affinity binding to heparin-agarose: evaluation on treatment in homozygous familial hypercholesterolemia. // Pediatric Res. - 1980. - V. 14. - P. 113-117.
- Lupien P.J., Moorjani S., Gagne C. et al. Long-term treatment of two familial hypercholesterolemic heterozygote patients with batch affinity chromatography (BAC). // Artery. – 1982. - V. 10, N 4. - P. 286-300.
- Mahley R.W. Cellular and molecular biology of lipoprotein metabolism in atherosclerosis // Diabetes. - 1981. - V.30 (suppl 2). - P.60-65.
- Maji D, Shaikh S, Solanki D, Gaurav K. Safety of statins. // Indian. J. Endocrinol. Metab. - 2013. – V. 17. - P. 636-46.
- Mäkinen P.I., Ylä-Herttuala S. Therapeutic gene targeting approaches for the treatment of dyslipidemias and atherosclerosis. // Curr. Opin. Lipidol. - 2013. – V. 24. - P. 116-22.
- Malinov M.R., Brown B.J., Wissler R.W., Srein O. Atherosclerosis repression, arterial wall cell interactions and atherogenic lipoproteins. // Arteriosclerosis. - 1983. - V. 3. - P. 627-630.

- Marais A.D., Blom D.J. Recent advances in the treatment of homozygous familial hypercholesterolaemia. // Curr. Opin. Lipidol. - 2013. - V. 24. - P. 288-94.
- Marais A.D. Dietary lipid modification for mild and severe dyslipidaemias. // Proc Nutr. Soc. - 2013. - V. 72. - P. 337-41.
- Mauricio M.D., Aldasoro M., Ortega J., Vila J.M. Endothelial dysfunction in morbid obesity. // Curr. Pharm. Des. - 2013. - V. 19. - P. 5718-29.
- McGowan M.P. Emerging low-density lipoprotein (LDL) therapies: Management of severely elevated LDL cholesterol--the role of LDL-apheresis. // J. Clin. Lipidol. - 2013. - V. 7(3 Suppl). - P. S21-6.
- Menotti A. The European multifactorial preventive trial of coronary heart disease: four year experience // Prev. Med.- 1983 - V. 12., N 1. - P. 175-180.
- Miettinen T.A., Huttunen J.K., Kuusi T, et al. Clinical experience with probucol with special emphasis on mode of action and long-term treatment // Artery. - 1982. - V7. 10, N1. - P. 35-43.
- Minder C.M., Blumenthal R.S., Blaha M.J. Statins for primary prevention of cardiovascular disease: the benefits outweigh the risks. // Curr. Opin. Cardiol. - 2013. - V. 28. - P. 554-60.
- Mitchell R.N. Learning from rejection: What transplantation teaches us about (other) vascular pathologies. // J. Autoimmun. - 2013. - V. 45. - P. 80-9.
- Mombelli G., Pavanello C. Novel therapeutic strategies for the homozygous familial hypercholesterolemia. // Recent. Pat. Cardiovasc. Drug. Discov. - 2013. - V. 8. - P. 143-50.
- Montecucco F., Quercioli A., Mirabelli-Badenier M., Viviani G.L., Mach F. Statins in the treatment of acute ischemic stroke. // Curr. Pharm. Biotechnol. - 2012. - V. 13. - P. 68-76.
- Moore K.J., Sheedy F.J., Fisher E.A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. // Nat. Rev. Immunol. - 2013. - V. 13. - P. 709-21.

- Moore R.B., Buchwald H., Varco R.L. et al. Plasma lipoproteins in the program on the surgical control of the hyperlipoproteinemias // Arteriosclerosis. - 1981. - V. 1. - P. 78.
- Moore S. Oathogenesis of atherosclerosis // Metabolism. - 1985- V.34, N 13, Suppl. I. - P. 13-16.
- Moura F.A., Freitas W.M., Sposito A.C. Emergent cardiovascular risk factors in the very elderly. // Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. - 2012. – V. 10. - P. 1221-5.
- Mukhopadhyay R. Mouse models of atherosclerosis: explaining critical roles of lipid metabolism and inflammation. // J. Appl. Genet. - 2013. – V. 54. - P. 185-92
- Musial J., Niewiarowski S., Hershock D. et al. Loss of fibrinogen receptors from the platelet surface during simulated extracorporeal circulation. // J. Lab. Clin. Med. - 1982. - V. 105. - P. 514-522.
- Naruszewicz M., Szostak W.B., Cybulski B. et al. The influence of clofibrate on lipid and protein components of very low density lipoproteins in type IV hyperlipoproteinemia // Atherosclerosis. - 1980. - V, 35, N 4. - P. 383-392.
- Neumann C.L., Schulz E.G., Hagenah G.C., Platzer U., Wieland E., Schettler V. Lipoprotein apheresis--more than just cholesterol reduction? // Atheroscler. Suppl. - 2013. – V. 14. - P. 29-32.
- Norata G.D., Sala F., Catapano A.L., Fernández-Hernando C. MicroRNAs and lipoproteins: a connection beyond atherosclerosis? // Atherosclerosis. - 2013. – V. 227. - P. 209-15.
- Ohtani Y. Long-term treatment with clofibrate (atromid). Observation of plasma - fibrinogen and serum-lipids // Cm. Trials J. - 1977. - V. 14, N 3. - P. 106- 116.
- Oldridge N. Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: meta-analysis outcomes revisited. // Future. Cardiol. - 2012. – V. 8. - P. 729-51.

- Olson D.M., Bettger J.P., Alexander K.P., Kendrick A.S., Irvine J.R., Wing L., Coeytaux R.R., Dolor R.J., Duncan P.W., Graffagnino C. Transition of care for acute stroke and myocardial infarction patients: from hospitalization to rehabilitation, recovery, and secondary prevention. // Evid. Rep. Technol. Assess. (Full. Rep). - 2011. - P. 1-197.
- Ono K. Current concept of reverse cholesterol transport and novel strategy for atheroprotection. // J. Cardiol. - 2012. - V. 60. - P. 339-43.
- Oosterveer D.M., Versmissen J., Yazdanpanah M., Hamza T.H., Sijbrands E.J. Differences in characteristics and risk of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients with and without tendon xanthomas: a systematic review and meta-analysis. // Atherosclerosis. - 2009. - V. 207. - P. 311-7.
- Orekhov A.N., Andreeva E.R., Krushinsky A.V. et al. Intimal cells and atherosclerosis. Relationship between the number of intimal cells and major manifestations of “atherosclerosis” in human aorta. // Amer. J. Pathol. . - 1986. - V. 125. - P.402-415.
- Orekhov A.N., Andreeva E.R., Krushinsky A.V., Smirnov V.N. Primary cultures of enzyme-isolated cells from normal and atherosclerotic human aorta. // Medical Bilogy. - 1984. - V.62.- P. 255-259.
- Orekhov A.N., Kalantarov G.F., Andreeva E.R. et al. Monoclonal antibody reveals heterogeneity in human aortic intima: detection of a ganglioside antigen associated with a subpopulation 1 // J. Pathology. - 1986. - V. 122, N 3. - P.379-385.
- Orekhov A.N., Karpova J.J., Tertov V.V. et al. Cellular composition of atherosclerotic and uninvolved human aortic subendothelial intima. // Am. J. Pathol. - 1984. - V. 115, N 1. - P. 17-24.
- Orekhov A.N., Kosykh V.A., Novikov I.D. et al. Heterogeneity of human aortic cells in regard to RNA content // Blood Vessels. - 1984. - V. 21. - P. 290-294.

- Orekhov A.N., Kosykh V.A., Pokrovsky A.V. Functional and metabolic characterization of cells from normal and atherosclerotic human aorta // E.I. Chazov and V.H. Smirnov (Eds), Vessel wall in athero- and thrombo-genesis - studies in the USSR, Springer-Verlag, Berlin. - 1982. - P. 52-61.
- Orekhov A.N., Kosykh V.A., Repin V.S., Smirnov V.N. Cell proliferation in normal and atherosclerotic human aorta. II. Autoradiographic observation on deoxyribonucleic acid synthesis in primary cell culture // Lab. Invest. - 1983. -V.48. - P.749-754.
- Orekhov A.N., Misharin S. Yu., Tertov V.V. et al. Artificial HDL as an anti-atherosclerotic drug. // Lancet. - 1984. - V. 2, N 8412. - P.1149-1150.
- Orekhov A.N., Tertov V.V., Khashimov Kh.A. et al. Evidence of antiatherosclerotic action of verapamil from direct effects on arterial cells. // American J. Cardiology. - 1987. - V.59, N 5. - P. 495-496.
- Orekhov A.N., Tertov V.V., Kozykh V.A. Proliferative activity of cells in normal human aorta and atherosclerotic lesion areas // J. Cell Biol. - 1984. - V. 99, N 81a.
- Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A. et al. Primary culture of human aortic intima cells as a model for testing antiatherosclerotic drugs. Effects of cyclic AMP, prostaglandins, calcium antagonists, antioxidants and lipid-lowering agents. // Atherosclerosis. - 1986. - V. 60. - P. 101-110.
- Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N. et al. Association of low-density lipoprotein with particulate connective tissue matrix components enhances cholesterol accumulation in cultural subendothelial cells of human aorta. // Biochim. Biophys. Acta (c). - 1987. - V. 928. - N 3. - P. 251-258.
- Orekhov A.N., Tertov V.V., Novikov I.D. et al. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. I. Lipid composition of

aortic tissue and enzyme isolated and cultured cells // Exp. Mol. Pathol. - 1985. - V. 42. - P.117-137.

Orekhov A.N., Tertov V.V., Kabakov A.E., Adamova I.Yu., Pokrovsky S.N., Smirnov V.N. Autoantibodies against modified low density lipoprotein. Nonlipid factor of blood plasma that stimulates foam cell formation. // Arterioscler. Thromb. 1991,11(2)316-326

Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A., Khashimov Kh.A., Smirnov V.N. Primary culture of human aortic intima cells as a model for testing antiatherosclerotic drugs. Effects of cyclic AMP, prostaglandins, calcium antagonists, antioxidants, and lipid-lowering agents. // Atherosclerosis. 1986,60(2)101-110

Orekhov A.N., Tertov V.V., Pokrovsky S.N., Adamova I.Yu., Martsenyuk O.N., Lyakishev A.A., Smirnov V.N. Blood serum atherogenicity associated with coronary atherosclerosis. Evidence for nonlipid factor providing atherogenicity of low-density lipoproteins and an approach to its elimination. // Circ. Res. 1988,62(3)421-429

Orekhov A.N. Direct anti-atherosclerotic therapy; development of natural anti-atherosclerotic drugs preventing cellular cholesterol retention. // Curr. Pharm. Des. - 2013. – V. 19. - P. 5909-28.

Orekhov A.N., Andreeva E.R., Tertov V.V., Krushinsky A.V. Dissociated cells from different layers of adult human aortic wall // Acta Anat. - 1984. - V. 119. - P. 99-105.

Orekhov A.N., Khashimov Kh.A., Mukhin D.N. et al. Low-density lipoprotein apheresis and regression of atherosclerotic plaque in vitro // J. Artificial Organs. - 1986. - V. 10, N 6, P. 466-469.

Orekhov A.N., Tertov V.V., Smirnov V.N. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. II. Lipid, metabolism in primary culture // Exper. and Mol. Pathology. - 1985. - V. 43. - P. 187-195.

Orekhov A.N., Tertov V.V., Smirnov V.N. Prostacyclin analogues as antiatherosclerotic drugs // Lancet. - 1983. - V.2, N 8348. - P. 521.

- Osborne T.F., Goldstein J.L., Brown M.S. 5' end of HMG CoA reductase gene contains sequences responsible for cholesterol-mediated inhibition of transcription // Cell. – 1985. - V. 42. - P. 203-212.
- Palmer S.C., Navaneethan S.D., Craig J.C., Johnson D.W., Perkovic V., Nigwekar S.U., Hegbrant J., Strippoli G.F. HMG CoA reductase inhibitors (statins) for dialysis patients. // Cochrane. Database. Syst. Rev. - 2013. – V. 9. - P. CD004289.
- Pang C.P. Molecular diagnostics for cardiovascular disease. // Clin. Chem. Lab. Med. 1998. – V. 36. - P. 605-14.
- Paoletti R., Franceschini G., Sirtori C.R. Influence of bezafibrate, fenofibrate, nicotinic acid and etofibrate on plasma high-density lipoproteins levels // Amer. J. Cardiol. – 1983. - V. 52. - P. 21B-27B.
- Parker A.D., Saal S.D., Gordon B.R. et al. Selective removal of plasma LDL lowers plasma cholesterol and raises high density lipoprotein // 1st International Congress of the World Apheresis Association. - Tokyo, 1986.
- Parker F., Odland C.F. A correlative histochemical, biochemical and electron microscopic study of experimental atherosclerosis in the rabbit aorta with special references to the myo-intimal cell // Am. J. Pathol. - 1986. - N 48. - P. 97-239.
- Parmley W.W., Blumlein S., Sievers R. Modification of experimental atherosclerosis by calcium-channel blockers. // Am. J. Cardiol. 1985. – V. 55. - P. 165B-171B
- Pearson J.D. Lipid metabolism in cultured aortic smooth muscle cells and comparison with other types. Part I. Composition of cells grown in hyperlipemic serum // Atherosclerosis. - 1976. - N 24. - 233-242.
- Pellicori P., Costanzo P., Joseph A.C., Hoye A., Atkin S.L., Cleland J.G. Medical management of stable coronary atherosclerosis. // Curr. Atheroscler. Rep. - 2013. – V. 15. - P. 313.

- Peters S.A., den Ruijter H.M., Grobbee D.E., Bots M.L. Results from a carotid intima-media thickness trial as a decision tool for launching a large-scale morbidity and mortality trial. // Circ. Cardiovasc. Imaging. - 2013. - V. 6. - P. 20-5.
- Pirillo A., Norata G.D., Catapano A.L. High-density lipoprotein subfractions—what the clinicians need to know. // Cardiology. - 2013. - V. 124. - P. 116-25.
- Pometta D. Traitements medicamenteux des hyperlipoproteinemias // Ther. Umsch. - 1980. - V.37, N 2. - P. 110-113.
- Postiglione A., Rubba P., Scarpato N. et al. Increased blood flow to lower Limbs after plasma exchange in two patients with familial hypercholesterolemia // Atherosclerosis. - 1982. - V. 41, N 2. - P. 421-425.
- Preobrazhensky S.N., Ivanov V.O., Fuki I.V. et al. Enzyme-linked immunoassay of low-density lipoprotein receptors. // Analytical biochemistry. - 1985. - V. 149. - p. 269-274.
- Preobrazhensky S.N., Tsibulsky V.P., Fuki I.V. et al. Enzyme immunoassay of the receptors for modified low density lipoprotein. // Analytical Biochemistry. - 1986. - V. 154. - P. 382-387.
- Proffet A.A., Hardman D.A., Sato K.Y. et al. Analysis of cDNA clones encoding the entire B-26 region of human apolipoprotein B // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - V. 83. - P. 5688- 5682.
- Pupita F. Therapie der Atherosklerose mit “essentiellen” Phospholipiden // Med. Mschr. - 1969. - V. 23. - S. 514-526.
- Ramasamy I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. // Clin. Chem. Lab. Med. - 2013 Aug 12. - P. 1-33.
- Reiner Z. Combined therapy in the treatment of dyslipidemia. // Fundam. Clin. Pharmacol. - 2010. - V. 24. - P. 19-28.

- Resanovic I., Rizzo M., Zafirovic S., Bjelogrlic P., Perovic M., Savic K., Patti A.M., Isenovic R.E. Anti-atherogenic Effects of 17 β -Estradiol. // Horm. Metab. Res. - 2013. - V. 45. - P. 701-8.
- Riccioni G., Sblendorio V. Atherosclerosis: from biology to pharmacological treatment. // J. Geriatr. Cardiol. - 2012. - V. 9. - P. 305-17.
- Robinson J.G. Management of familial hypercholesterolemia: a review of the recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. // J. Manag. Care. Pharm. - 2013. - V. 19. - P. 139-49.
- Roffi M., Cremonesi A. Current concepts on the management of concomitant carotid and coronary disease. // J. Cardiovasc. Surg. (Torino). - 2013. - V. 54. - P. 47-54.
- Röhrl C., Stangl H. HDL endocytosis and resecretion. // Biochim. Biophys. Acta. - 2013. - V. 1831. - P. 1626-1633.
- Rosas E., Sobenin I., Orekhov A., Edelman E.R., Balcells M. Importance of receptor-targeted systems in the battle against atherosclerosis. // Curr. Pharm. Des. - 2013. - V. 19. - P. 5897-903.
- Rosenson R.S., Underberg J.A. Systematic review: evaluating the effect of lipid-lowering therapy on lipoprotein and lipid values. // Cardiovasc. Drugs. Ther. - 2013. - V. 27. - P. 465-79.
- Ross R. Atherosclerosis: a problem of the biology of arterial wall cells and their interaction with blood components // Arteriosclerosis. - 1981. - P. 293-311.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update // N. Engl. J. Med. - 1986. - V. 134. - P. 488-499.
- Ross R. The smooth muscle cell. II. Growth of smooth muscle in culture and formation of elastic fibers. // J. Cell. Biol. - 1971. - N 50. - P. 172-186.

- Ross R., Glomser J. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell // Science. – 1973. – N 180. – P. 1332-1339.
- Ross R., Wright T.N., Strandness E., Thiele B. Human atherosclerosis: I. Cell construction and characteristics of advanced lesions of the superficial femoral artery // Am. J. Pathol. - 1984.- N 114. - P. 79-93.
- Sahebkar A., Watts G.F.. Fibrate therapy and circulating adiponectin concentrations: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. // Atherosclerosis. - 2013. – V. 230. - P. 110-20.
- Salabei J.K., Hill B.G. Implications of autophagy for vascular smooth muscle cell function and plasticity. // Free. Radic. Biol. Med. - 2013. – V. 65C. - P. 693-703.
- Salonen J.T., Puska P. Relation of serum cholesterol and triglyceride to the risk of acute myocardial infarction, cerebral stroke and death in eastern Finnish male population // Int. J. Epidemiol. - 1983. - V. 12, N 1. - P. 26-31.
- Samochowiec L. Investigations in experimental atherosclerosis. Part I: The effects of phosphatidylcholine (EPL) on experimental atherosclerosis in white rats // Atherosclerosis – 1976 - V. 23. - P. 305-318.
- Samochowiec L. Part 2: The effect of Phosphatidylcholine (EPL) on experimental atherosclerotic changes in miniature pigs // Atherosclerosis. - 1976. - V. 23. - P. 319-327.
- Sánchez-Quesada J.L., Villegas S., Ordóñez-Llanos J. Electronegative low-density lipoprotein. A link between apolipoprotein B misfolding, lipoprotein aggregation and proteoglycan binding. // Curr. Opin. Lipidol. - 2012. – V. 23. - P. 479-86.
- Scaldaferri F., Pizzoferrato M., Ponziani F.R., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Use and indications of cholestyramine and bile acid sequestrants. // Intern. Emerg. Med. - 2013. – V. 8. - P. 205-10.

- Schettler V., Neumann C.L., Hulpke-Wette M., Hagenah G.C., Schulz E.G., Wieland E.; German Apheresis Working Group. Current view: indications for extracorporeal lipid apheresis treatment. // Clin. Res. Cardiol. Suppl. - 2012. - V. 7(Suppl 1). - P. 15-9.
- Schofield J.D., France M., Ammori B., Liu Y., Soran H. High-density lipoprotein cholesterol raising: does it matter? // Curr. Opin. Cardiol. - 2013. - V. 28. - P. 464-74.
- Schofield J.D., France M., Ammori B., Liu Y., Soran H. High-density lipoprotein cholesterol raising: does it matter? // Curr. Opin. Cardiol. - 2013. - V. 28. - P. 464-74.
- Schonfeld G. Lipoproteins in atherogenesis // Artery. - 1979. - N 5. - P. 305-329.
- Schwandt P., Richter W.O., Wiesweiler P., Neurenter G. Cholestyramine plus pectin in treatment of patients with familial hypercholesterolemia // Atherosclerosis. - 1982. - V.44, N 3. - P. 379-388.
- Schwandt P., Weisweiler P., Drosner M., Janetschek P. Effects of bezafibrate on the composition of very low density lipoproteins in type IV hyperlipoproteinemia // Atherosclerosis. - 1982. - V. 42, N 2/3. - P. 245-249.
- Sena C.M., Pereira A.M., Seiça R. Endothelial dysfunction - A major mediator of diabetic vascular disease. // Biochim. Biophys. Acta. - 2013. - V. 1832. - P. 2216-2231.
- Siasos G., Tousoulis D., Athanasiou D., Oikonomou E., Tourikis P., Gouliopoulos N., Limperi M., Kampoli A.M., Toutouzas K., Papavassiliou A.G., Stefanadis C. Novel risk factors related to stable angina. // Curr. Pharm. Des. - 2013. - V. 19. - P. 1550-61.
- Simons L.A., Gibson J.C., Isbisten J.P., Biggs J.C. The effect of plasma exchange on cholesterol metabolism // Atherosclerosis. - 1978. - N 31. - P. 195-204.

- Sjouke B., Kusters D.M., Kastelein J.J., Hovingh G.K. Familial hypercholesterolemia: present and future management. // Curr. Cardiol. Rep. - 2011. - V. 13. - P. 527-36.
- Smith E.B. The relationship between plasma and tissue lipids in human atherosclerosis // Adv. Lipid Res. - 1974. - N 12. - P. 1-49.
- Smith E.B., Smith R.H. Early changes in aortic intima. // Paoletti R., Gotto A.M. eds. Atherosclerosis Reviews, V. 1, New York: Raven Press. - 1976. - P. 119-135.
- Sniderman A., Kwiterovich P.O. Update on the detection and treatment of atherogenic low-density lipoproteins. // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes. - 2013. - V. 20. - P. 140-7.
- Sobenin I.A., Chistiakov D.A., Bobryshev Y.V., Postnov A.Y., Orekhov A.N. Mitochondrial mutations in atherosclerosis: new solutions in research and possible clinical applications. // Curr. Pharm. Des. - 2013. - V. 19. - P. 5942-53.
- Sobenin I.A., Karagodin V.P., Melnichenko A.A., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Diagnostic and prognostic value of low density lipoprotein-containing circulating immune complexes in atherosclerosis. // J. Clin. Immunol. - 2013. - V. 33. - P. 489-95.
- Sorci-Thomas M.G., Thomas M.J. High density lipoprotein biogenesis, cholesterol efflux, and immune cell function. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. - 2012. - V. 32. - P. 2561-5.
- Spano P.F., Szyszka K., Galli C.L., Ricci A. Effect of clofibrate on free and total tryptophan in serum and brain tryptophan metabolism // Pharmacol. Res. Comm. - 1974. - V. 6. - N 2. - P. 163-173.
- Spigal C. Einfluss der “essentiellen” Phospholipide auf den Lipidspiegel // Med. Heute. - 1970. - N 6. - S. 536-544.
- St. Clair R.W. Cholesteryl ester metabolism in atherosclerotic arterial tissue // An. N.Y. Acad. Sci. - 1976. - N 275. - P. 228-237.

- Stefanutti C., Julius U. Lipoprotein apheresis: state of the art and novelties. Atheroscler Suppl. - 2013. - V. 14. - P. 19-27.
- Schuff-Werner P, Fenger S, Kohlschein P. Role of lipid apheresis in changing times. // Clin. Res. Cardiol. Suppl. - 2012. - V. 7(Suppl 1). - P. 7-14.
- Stegmayr B.G. A survey of blood purification techniques. // Transfus. Apher. Sci. - 2005. - V. 32. - P. 209-20.
- Stein E.A., Glueck C.J., Wesselman A. et al. Repetitive intermittent flow plasma exchange in patients with severe hypercholesterolemia // Atherosclerosis. - 1981. - N 38. - P. 149-164.
- Stein E.A., Nishikawa A., Gerson M., Gould L. The repetitive plasma exchange (PRE)/ Drug study in familial hypercholesterolemia (FH): A controlled clinical trial to assess the effect on atherosclerosis // 1st International Congress of the World Apheresis Association. - Japan. - 1986. - SV-3. - P.70.
- Stemerman M., Morrel E., Burke K. et al. Local variation in arterial wall permeability to low density lipoprotein in normal rabbit aorta. // Arteriosclerosis. - 1986. - V. 6. - P. 64- 69.
- Stock E.O., Redberg R. Cardiovascular disease in women. // Curr. Probl. Cardiol. - 2012. - V. 37. - P. 450-526.
- Stoffel W. Pleomorphe Funktionen von hochungesättigten Phospholipiden in biologischen Membranen und Serumlipoproteinen // Med. Welt. - 1978. - N 29. - P. 121-141.
- Stoffel W., Bonde C., Pineda A. Selective Plasma Component Removal // New York. - 1984. - P. 1-22.
- Stoffel W., Borberg H., Greve V. Application of the specific extracorporeal removal of low density lipoprotein in familial hypercholesterolemia // Lancet. - 1981b. - N 8254. - P. 1005.

- Stoffel W., Borberg H., Oette K. Specific LDL-apheresis for the treatment of familial Hypercholesterolemia // International conference on preventive cardiology, Moscow, 1985. - P.21
- Stoffel W., Denmant T. Selective removal of apolipoprotein B-containing serum lipoproteins from blood plasma // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1981a. - N 72. - P. 611-665.
- Superko H.R., Pendyala L., Williams P.T., Momary K.M., King S.B. 3rd, Garrett B.C. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. // J. Clin. Lipidol. – 2012. – V. 6. - P. 496-523.
- Tertov V.V., Orekhov A.N., Smirnov V.N. Cyclic AMP and cyclic GMP content in a short-term organ culture of normal and atherosclerotic human aorta // Artery. - 1986. – V. I3, N 6. - P. 373-382.
- Thanabalasingham S., Thompson G.R., Trayner J. et al. Effect of lipoprotein concentration and lecithincholesterol acyltransferase activity on cholesterol esterification in human plasma exchange // Eur. J. Clin. Invest. - 1980. - N 10. - P. 45-48.
- Thompson G., Kilpatrick D., Oakley C. et al. Reversal of cholesterol accumulation in familial hypercholesterolemia by long-term plasma exchange (abstract) // Circulation. – 1978 - V. 57, N 58. - Suppl. II. - P. 171.
- Thompson G.R. Management of familial hypercholesterolemia and new approaches to the treatment of atherosclerosis // Atherosclerosis Reviewa / Vol. 5, ed. by R. Paoletti and A.M. Gotto Jr. - Raven Press, New York, 1979. – P. 67-89.
- Thompson G.R. Plasma exchange for hypercholesterolemia // Lancet. - 1981. - N 1. - P. 1246-1248.
- Thompson G.R., Gotto A.M. Ileal bypass in the treatment of hyperlipoproteinemia // Lancet. – 1973. - N 2. - P.35-36.

- Thompson G.R., Kilpatrick D., Raphael M. et al. Use of plasma exchange to induce regression of atheroma in familial hypercholesterolemia // European J. Clin. Invest. - 1977. - N 7. - P. 233.
- Thompson G.R., Lowenthal R., Myant N.B. Plasma exchange in the management of homozygous familial hypercholesterolemia // Lancet. - 1975. - V. 1. - p. 1208-1211.
- Thompson G.R., Miller J.P., Breslow J.L. Plasma exchange prolongs survival in homozygous familial hypercholesterolemia (FH) // 1st International Congress of the World Apheresis Association. Japan, 1986. - SY-3. - P. 70.
- Thompson G.R., Myant N.B., Kilpatrick D. et al. Assessment of long-term plasma exchange for familial hypercholesterolemia // Br. Heart. J. - 1986. - V. 43. - P. 680-688.
- Thompson G.R., Myant N.M., Oakley C. et al. Combine medico-surgical strategy for severe familial hypercholesterolemia // Gotto A.M. Jr., Smith L.C., Allen B. eds. Atherosclerosis. V. Berlin: Springer. - 1980. - P. 454-457.
- Thompson G.R., Senter A.K., Spengel F.A. et al. Defects of receptor-mediated low density lipoprotein catabolism in homozygous familial hypercholesterolemia and hypothyroidism in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1981. - V.78. - P. 2591- 2596.
- Thompson G.R. The evidence-base for the efficacy of lipoprotein apheresis in combating cardiovascular disease. // Atheroscler. Suppl. - 2013. – V. 14. - P. 67-70.).
- Thompson P.L, Nidorf S.M., Eikelboom J. Targeting the unstable plaque in acute coronary syndromes. // Clin. Ther. - 2013. – V. 35. - P. 1099-107.
- Thosar S.S., Johnson B.D., Johnston J.D., Wallace J.P. Sitting and endothelial dysfunction: the role of shear stress. // Med. Sci. Monit. - 2012. – V. 18. - P. RA173-80.

- Tobert J.A., Hitzenberger G., Kutowetz W.T. et al. Rapid and substantial lowering of human serum cholesterol by mevinolin (MK 803), an inhibitor of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase // Atherosclerosis. - 1982. - V.41. - 61- 65.
- Tonstad S., Després J.P. Treatment of lipid disorders in obesity. // Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. - 2011. - V. 9. - P. 1069-80.
- Turnberg L.A., Mahoney M.P., Gleeson M.N. et al. Plasmapheresis and plasma exchange in the treatment of hyperlipidemia and xanthomatous neuropathy in patients with primary biliary cirrhosis. // Gut. - 1972. - V. 13. - P. 976-981.
- Turpin G. Les hyperlipidémies. Indications et utilisations thérapeutiques des connaissances modernes // Concours med. - 1979 - V.101, N 44. - P. 7136-7156.
- Tyroler H.A. Total serum cholesterol and ischemic heart disease risk in clinical trials and observational studies. // Am. J. Prev. Med. 1985. - V. 1. - P. 18-24.
- Umans-Eckenhausen M.A., Defesche J.C., Sijbrands E.J., Scheerder R.L., Kastelein J.J. Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolemia in the Netherlands. // Lancet. - 2001. - V. 357. - P. 165-8.
- Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. - 1975. - V. 114. - P. 129-141.
- von Baeyens H., Schwerdtfeger R., Schwartzkopff W. et al. Selective removal of (LDL) by plasmapheresis combined with selective plasma protein ultrafiltration (SPU) // Plasma Ther. - 1983. - N 4. - P. 447-458.
- Wanjare M., Kusuma S., Gerecht S. Perivascular cells in blood vessel regeneration. // Biotechnol. J. - 2013. - V. 8. - P. 434-47.
- Watts G.F., Juniper A., van Bockxmeer F., Ademi Z., Liew D., O'Leary P. Familial hypercholesterolemia: a review with emphasis on evidence

- for treatment, new models of care and health economic evaluations. // Int. J. Evid. Based. Healthc. - 2012. - V. 10. - P. 211-21.
- Wechsler J.G., Hutt V., Klor H.J. et al. Wirkung von Bezafibrat bei primären Hyperlipidämien // Klin. Wschr. - 1982 - V. 60, N 2. - P. 97-105.
- Wei C.F., Chen S.H., Yang C.-Y. et al. Molecular cloning and expression of partial cDNAs and deduced amino acids sequence of a carboxyl-terminal fragments of human apolipoprotein B-100 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1985. - V. 82. - P. 7265-7269.
- Weidmann P., Gerber A., Mordasini R. Effects of antihypertensive therapy on serum lipoproteins // Hypertension. - 1983 - V. 5. - P. 111-131.
- Wierzbicki A.S., Viljoen A., Hardman T.C., Mikhailidis D.P. New therapies to reduce low-density lipoprotein cholesterol. // Curr. Opin. Cardiol. - 2013. - V. 28. - P. 452-7.
- Wierzbicki A.S., Viljoen A., Hardman T.C., Mikhailidis D.P. New therapies to reduce low-density lipoprotein cholesterol. // Curr. Opin. Cardiol. - 2013. - V. 28. - P. 452-7.
- Wissler R. The emerging cellular pathobiology of atherosclerosis // Artery. - 1979. - V. 5, N 5. - p. 409-423.
- Witztum J., Williams J., Ostlund R. et al. Successful plasmapheresis in a 4-year-old child with homozygous familial hypercholesterolemia // J. Pediatr. - 1980. - N 97. - P. 615- 618.
- Wu M., Rementer C., Giachelli C.M. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment. // Calcif. Tissue. Int. - 2013. - V. 93. - P. 365-73.
- Yamamoto A., Matsuzawa Y., Kishino B. et al. Effects of probucol on homozygous cases of familial hypercholesterolemia // Atherosclerosis. - 1983. - V. 48. - P. 157-166.
- Yamashita S., Matsuzawa Y. Where are we with probucol: a new life for an old drug? // Atherosclerosis. - 2009. - V. 207. - P. 16-23.

- Yang Y., Wang L., Si S., Hong B. How can high-throughput screening deliver drugs to treat atherosclerosis? // Expert. Opin. Drug. Discov. - 2010. - V. 5. - P. 1175-88.
- Yasugi T. Effect of EPL on serum lipid level // Shinyaku to Rinsho. - 1973. - N 22. - P. 691-698.
- Yokoyama S., Hayashi R., Yamamoto A. et al. Selective removal of low density lipoprotein by plasmapheresis and regression of atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. // 1st International Congress of the World Apheresis Association. Tokyo, 1986. - Op. 10-1.
- Zanchetti A. Antihypertensive therapy and cardiovascular complications // J. Cardiovasc. Pharmacol. - 1986. - N 8. - P. 934-938.
- Zeng Y., Song J.X., Shen X.C. Herbal remedies supply a novel prospect for the treatment of atherosclerosis: a review of current mechanism studies. // Phytother. Res. - 2012. - V. 26. - P. 159-67.
- Zilesman E.M. The complications of therapeutic plasma exchange // Vox Sang. - 1984. - N 46(52). - P. 270-276
- Аронов Д.М. Функциональные нагрузочные тесты // Руководство по кардиологии / Под ред. Чазова Е.И. - М.: Медицина. – 1982, т.2. - С.587-605.
- Герасимова Е.Н., Глазунов И.С., Деев А.Д. Исследование содержания в плазме крови мужчин в возрасте 40-59 лет . – ИС и некоторых гормонов, влияющих на его уровень // Терапевтический архив. - 1978. - № 54, С.24-28.
- Герасимова Е.Н., Перова Н.В., Курданов Х.А. и др. // Нарушение холестеринтранспортной функции липопротеидов плазмы крови у больных ИБС // Вопросы медицинской химии. - 1984. - № 6. - С.71-76.
- Герасимова Е.Н., Перова Н.В., Пасечник В.И. Изменение свойств модельных мембран при взаимодействии с атерогенными и

антиатерогенными классами липопротеидов с различными физико-химическими характеристиками // Кардиология. - 1980. - № 8. - С.12-15.

Герасимова Е.Н., Торховская Т.И., Озерова И.Н. Жирно-кислотный состав липопротеидов высокой плотности при гиперальфаминопротеидемии // Вопросы мед.химии. - 1980. - № 5. - С. 650-655.

Климов А.Н. Липопротеиды высокой плотности и проблема атеросклероза // Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз / Под ред. Климова А.Н. и Леви Р.И. - М.,1983. - С.16-24.

Климов А.Н. Липопротеиды плазмы крови // Структура биосинтеза, превращения и функции / Под ред. Балашова И.А. и Северина С.Е. - М.:Наука, - 1977 б. - С.57-80.

Климов А.Н. Липопротеиды плазмы крови и атеросклероз // Дислипидотеидемии и ишемическая болезнь сердца / Под ред. Чазова Е.И., Климова А.Н. - М.: Медицина. - 1981. - С.11-25.

Климов А.Н. Липопротеиды плазмы крови, их функция и метаболизм // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ / Под ред. Северина С.Е. - М.,1981. - С.45-75.

Климов А.Н. Некоторые вопросы патогенеза атеросклероза с позиции современных биохимических исследований // Кардиология. - 1980. - № 8. - С.5-11.

Климов А.Н. Причины и условия развития атеросклероза // Превентивная кардиология / Под ред. Косицкого Г.И. - М.: Медицина. - 1977. - С.260-321.

Климов А.Н. Холестерин и клетка // Сборник научных трудов НИИ экспериментальной медицины. Л.,1985. - С.26-46.

- Климов А.Н., Герасимова Е.Н., Шестов Д.Б. и др. Уровень общего холестерина в крови мужчин 40-59 лет в Москве и Ленинграде // Кардиология. - 1979. - № 4. - С.61-67.
- Климов А.Н., Деев А.Д., Шестов Д.Б., Вильямс О.Д. Оценка липидных показателей и индексов при ИБС // Кардиология.- 1983 - № 10. - С.82-86.
- Климов А.Н., Денисенко А.Д., Зубжицкий Ю.Н. Обнаружение аутоиммунного комплекса липопротеид-антитело в плазме крови и стенке аорты человека // Вопросы мед.химии. - 1978. - № 4. - С.539-543.
- Климов А.Н., Лебедев Л.В., Седлицкий Ю.И. и др. Хирургическая коррекция гиперлипопротеидемии у больных ишемической болезнью сердца. // Кардиология. - 1984. - № 2.- С.18-21.
- Климов А.Н., Нагорнев В.А. Методологические аспекты этиологии и патогенеза атеросклероза // Кардиология. - 1983. - Т.XXIII, № 3. - С.5-10.
- Климов А.Н., Никульчева Н.Г. О некоторых фармакологических подходах к нормализации обмена липидов у больных атеросклерозом // Терапевтический архив. - 1983. - Т.XIV, № 6. - С.29-33.
- Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Дислипопротеидемии и методы их диагностики // Дислипопротеидемии и ишемическая болезнь сердца / Под ред. Чазова Е.И., Климова А.Н. - М.:Медицина. – 1980. - С.26-82.
- Климов А.Н., Попов А.В. О механизмах транспорта липопротеидов и холестерина в сосудистую стенку // Кардиология. - 1976. – № 2. - С.30-36.
- Курманова Л.В., Ермолин Г.А., Эткин А.Ф. и Цветков В.С. Получение специфических иммуноферментных коньюгатов против

иммуноглобулинов классов A, G, M человека. // Лабораторное дело.- 1984 - № 7. - С.402-406.

Лопухин Ю.М. Экспериментальные проблемы гемосорбции в клинической медицине // Вестник АМН СССР. - 1979. - № 11. - С. 35-42.

Лопухин Ю.М., Климов А.Н., Арчаков А.И., и др. Гемосорбция - метод быстрого удаления холестерина из плазмы крови и влияние ее на регрессию экспериментального атеросклероза у кроликов // Кардиология. - 1983. - № 3. - С.11-14.

Лопухин Ю.М., Маркин С.С. Семейная гиперхолестеринемия (клиника, диагностика, лечение) // Терапевтический архив. - 1983. - № 1. - С. 86-91.

Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н., Александрова О.В. и др. Гемосорбция как метод лечения больных с семейной гиперлипидемией // Тр. ин-та 12-й Московского мед.ин-та, 1981. - Т.158, сер.: Хирургия. - С.56-64.

Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н., Маркин С.С. и др. Гемосорбция - новый подход к лечению и профилактике атеросклероза. // 1 Всесоюзная конференция "Поражение сосудистой стенки и гемостаз". - Полтава, 1981. - С.124-125.

Микаелян И.П., Ключникова Ж.И., Шингирей М.В. и др. Влияние гемосорбции на состояние липидного состава крови при алиментарной гиперхолестеринемии у кроликов. // Тр. ин-та 2-й Моск. мед. ин-т, 1981. - Т.158. Сер.: Хирургия. - вып. 32. - С.65-67.

Мясников А.Л. Клинические наблюдения над холестеринемией при атеросклерозе // Терапевтический архив. - 1960. - Т.2, № 5-6. - С.411-437.

Орехов А.Н., Косых В.А. Функциональные и метаболические характеристики клеток аорты человека в норме и при

атеросклеротическом поражении / Стенка сосудов в атеро- и тромбогенезе // Под ред. Чазова Е.И. и Смирнова В.Н. - М.,1983. - С.53-61.

Орехов А.Н., Косых В.А., Тертов В.В. Метаболические и функциональные особенности клеток атеромы человека в первичной культуре // IX Всемирный конгресс кардиологов. - Москва, 20-26 июня 1982, С.250.

Орехов А.Н., Тертов В.В., Андреева Е.Р. и др. Клеточный состав и биохимические особенности субслоев интимы аорты взрослого человека // II Всесоюзный симпозиум "Метаболизм, структура и функция сердечной клетки". Ташкент,1983. - С.11.

Орехов А.Н., Тертов В.В., Смирнов В.Н. Регрессия атеросклероза в культуре клеток // 16-я конференция федерации Европейских биохимических обществ. - М.,1984. - С.103.

Орехов А.Н., Хашимов Х.А. Субэндотелиальные клетки аорты человека, происхождение и роль в атерогенезе // IV Всесоюзный съезд кардиологов. - М.,1986. - С.13-14.

Орехов А.Н., Тертов В.В., Собенин И.А. Модифицированные липопротеиды и атеросклероз. Обнаружение, характеристика, механизмы модификации, атерогенность. // LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH, 2012, 295 с. ISBN: 978-3-8433-8798-9

Орехов А.Н. Атеросклероз. Молекулярно-клеточные механизмы атерогенеза человека; антиатеросклеротическая терапия. // Palmarium Academic Publishing, 2013, 536 с. ISBN: 978-3-659-98213-2

Перова Н.В. Аполилопротеины при дислипопротеидемиях и атеросклероз: Дисс. докт. мед. наук. - М.,1982.

Перова Н.В. Возможности применения метода электрофореза на различных поддерживающих средах для анализа спектра липопротеидов плазмы крови / Дислипопротеидемии и

- ишемическая болезнь сердца // Под ред. Чазова Е.И. и Климова А.Н. - М., 1980. - С.103-113.
- Перова Н.В. Значение дислипопротеидемий в атеросклерозе // Кардиология, 1985. - № 8. - С.1-5.
- Покровский С.Н., Адамова И.Ю., Бабий А.В. Теоретические и экспериментальное обоснование процедуры иммуносорбции // Кардиология. - 1986. - № 10. - С.49-54.
- Покровский С.Н., Чигинадзе О.М., Адамова И.Б. и др. Специфический иммуносорбент для аферез атерогенных классов липопротеидов. // Международная конференция по профилактической кардиологии. - Москва, 23-26 июня 1985. - С.133.
- Симбирцев С.А. Искусственное сердце и вспомогательное кровообращение // Тбилиси. - 1979. - С.15-18.
- Чазов Е.И. Итоги и перспективы научных исследований во Всесоюзном кардиологическом научном центре АМН СССР // Бюллетень ВКНЦ АМН СССР. - 1978. - № 1. - С.3-12.
- Чазов Е.И. Организация борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями в СССР // Терапевтический архив. - 1980. - № 1.- С.3-9.
- Чазов Е.И. Патогенетические основы предупреждения атеросклероза // Терапевтический архив. - 1985. - № 11. - С.29-33.
- Чазов Е.И. Проблемы борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Кардиология. - 1973. - № 2. - С.5-10.
- Чазов Е.И. Проблемы первичной профилактики сердечнососудистых заболеваний // Терапевтический архив. - 1976а. - № 6.- С.3-11.
- Чазов Е.И. Состояние и перспективы развития исследований в области борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Вестник АМН СССР. - 1976 б. - № 12. - С.42-44.

Чазов Е.И. Фундаментальные исследования и практическая кардиология // Фундаментальные науки - медицине. - М.: Наука.- 1981. - С.42-53.

Чазов Е.И. Эмоциональные стрессы и сердечно-сосудистые заболевания // Вестник АМН СССР. - 1975. - № 8. - С.3-8.

More Books!



yes i want morebooks!

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн – в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов! окружающей среде благодаря технологии Печати-на-Заказ.

Покупайте Ваши книги на
www.more-books.ru

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at
www.get-morebooks.com



VDM Verlagsservice-
gesellschaft mbH

VDM Verlagsservicegesellschaft mbH
Heinrich-Böcking-Str. 6-8
D - 66121 Saarbrücken

Telefon: +49 681 3720 174
Telefax: +49 681 3720 1749

info@vdm-vsg.de
www.vdm-vsg.de

