

## НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ ДИСЛИПИДЕМИИ

Кирковский В.В.<sup>1</sup>, Колесникова И.Г.<sup>1</sup>, Голубович В.П.<sup>2</sup>, Рябцева Т.В.<sup>1</sup>,  
Макаревич Д.А.<sup>2</sup>, Седёлкина Е.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

г. Минск, Республика Беларусь

Считается твердо доказанным факт, что одной из главных причин атеросклеротического повреждения сосудов являются грубые нарушения метаболизма липопротеинов, а именно стойкое повышение концентрации в плазме крови липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП). Как показывает клинический опыт, применение с целью коррекции данных отклонений препаратов, тормозящих процессы синтеза соответствующих субстанций, а также соблюдение строгой диеты для профилактики поступления холестерина с пищей зачастую не дают желаемого результата. А при дислипидемии первого типа они всегда безуспешны [1,2].

Для снижения концентрации ЛПНП, наряду с медикаментозными способами воздействия, особый практический интерес представляют сорбционные технологии. В их основе лежит взаимодействие компонентов крови с лигандом, иммобилизованным на нерастворимую, инертную, биосовместимую матрицу. Лиганд обладает свойством избирательно связывать на себя за счет процесса адсорбции определенный компонент крови, не затрагивая при этом другие компоненты. Матрица выполняет функции носителя, удерживающего лиганд, определяет удельную поверхность, форму и механические свойства сорбента, его проницаемость для плазмы или крови [3].

Понимание исключительной важности этой проблемы для ряда отечественных и зарубежных ученых стало побудительным мотивом для разработки устройств и методик по экстракорпоральному удалению из организма избытка этого класса метаболитов. Зарубежными авторами были разработаны и достаточно широко применяются в настоящее время аппараты и расходные материалы для этих целей.

Известен сорбент для удаления ЛПНП, представляющий собой микропористые сферические гранулы размером 150-200 мкм из полиакриламида, поверхность которых покрыта полиакриловой кислотой. Сорбент применяется в системах очистки крови DALI (Direct Adsorption of Lipoproteins) фирмы Fresenius (Германия) [4]. Полиакриловая кислота в составе сорбента преимущественно связывает на себя ЛПНП, что обеспечивает высокую сорбционную селективность, а микропористая структура полимерной матрицы сорбента обеспечивает высокую сорбционную емкость. Данный сорбент обладает существенными недостатками: необходимость использования токсичных реагентов, сложная многостадийная технология получения полимерной матрицы и иммобилизации на ней лиганда, что обуславливает высокую стоимость сорбента.

Также разработан сорбент для удаления ЛПНП из крови, матрицей которого служит промышленный полимерный материал для гель-фильтрации TOYOPEARL®HW, представляющий собой нанопористые сферические гранулы размером 50-150 мкм из гидроксильированного метакрилового сополимера. Лигандом для избирательной сорбции ЛПНП служит полиакриловая кислота, которая химически связана с поверхностью матрицы через молекулу-спейсер, получаемую реакцией алифатического диамина с альдегидом [5]. Недостатками данного сорбента являются необходимость использования токсичных реагентов для иммобилизации лиганда на поверхности матрицы сорбента, высокая стоимость материала матрицы, обуславливающая высокую

стоимость сорбента в целом.

Существуют и другие методы экстракорпоральной коррекции дислипидемии. Тем не менее, все они имеют неприемлемо высокую цену и поэтому малодоступны для практического здравоохранения.

Следует отметить, что сотрудниками института биоорганической химии НАН Республики Беларусь ведется исследование по разработке биоспецифического антилипопротеидного гемосорбента «Антилипопротеид». Проведенные стендовые опыты показали высокую кинетику связывания непосредственно из цельной крови ЛПНП и ЛПОНП при отсутствии сорбции липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Несомненно, налаживание производства данного вида гемосорбента позволит резко расширить возможности лечения пациентов с тяжелыми формами дислипидемии, резистентным к консервативным методам лечения.

Разработка гемосорбента «Антилипопротеид» осуществлялась по государственной программе совместно с НП ОДО «Фармавит» на этапе освоения производства. Биоспецифический лиганд был разработан в лаборатории прикладной биохимии с использованием собственного программного продукта по моделированию белок-белковых взаимодействий.

В рамках государственной программы проведен синтез гемосорбента «Антилипопротеид» для прохождения испытаний. Разработан полный комплект документов для регистрации средства медицинского назначения. Проведены доклинические испытания гемосорбента «Антилипопротеид».

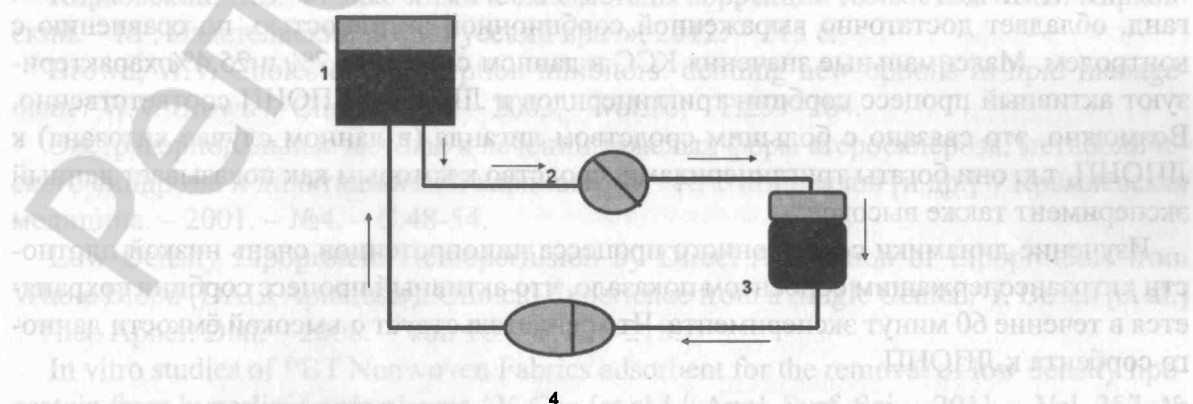
**Цель исследования:** изучить возможность и степень элиминации из цельной крови ЛПНП и ЛПОНП без влияния на концентрацию ЛПВП с помощью гемосорбента «Антилипопротеид».

#### **Материалы и методы**

Для проведения экспериментов использовалась плазма больных с заведомо высоким уровнем общего холестерина (свыше 500 КЕ/л). Плазму получали в результате проведения среднеобъемного лечебного плазмафереза. Для гемоэкспфузии использовали пластиковые контейнеры типа «Гемакон», которые помещали в рефрижераторные центрифуги типа «Вескмап» и центрифугировали при 2500 оборотов в минуту, в течение 10 минут. Полученную плазму удаляли с помощью плазмоэкстрактора и переливали в пластиковый контейнер.

Для проведения стендовых экспериментов необходимое количество плазмы составляло 200 мл. Соотношение плазма: сорбент составляло 10:1, что максимально приближает эксперимент к условиям плазмасорбции *in vivo*.

В стендовом эксперименте плазмасорбции в режиме рециркуляции использовался универсальный перистальтический насос (рисунок 1).



1. Емкость с плазмой; 2. Перистальтический насос; 3. Массообменник с сорбентом; 4. Ловушка;

**Рисунок 1 – Схема стендового эксперимента**

Осуществлялось промывание массообменника с сорбентом 400мл NaCl 0,9%, после удаления из контура физиологического раствора осуществляли плазмасорбцию в «кипящем слое», скорость перфузии плазмы через массообменник с сорбентом составляла  $10 \pm 2$  мл/мин, время эксперимента - 60 минут.

Биохимическое определение липопротеинового спектра проводилось по стандартным методикам на биохимическом анализаторе фирмы Hitachi. Для оценки элиминирующей активности экспериментальных сорбентов рассчитывался коэффициент сорбционной способности (КСС).

$KCC = (K1 - K5)/K1 * 100\%$ , где K1 - концентрация биохимического показателя до начала стендового эксперимента, K5 – концентрация биохимического показателя после 60 минут сорбции в режиме рециркуляции.

Стандартная обработка результатов включала подсчет средних арифметических величин (M) и ошибок средних (m) с использованием статистического пакета STATISTICA 6.0.

### Результаты и обсуждение

Сорбционная активность модифицированной гранулированной полиэтиленовой матрицы без лиганда представлены в таблице 1.

**Таблица 1** – Сорбционная активность модифицированной матрицы без лиганда

№ пп	Б\х показатель	Концентрация б\х показателей, моль/л					КСС, %
		Время проведения сорбции, мин.					
		0", K1	10" до колонки, K2	10" после колонки, K3	30", K4	60", K5	
1	Триглицериды	2,28±0,01	2,28±0,02	2,26±0,01	2,27±0,01	2,27±0,01	0,4
2	ЛПВП	0,32±0,02	0,31±0,01	0,32±0,01	0,30±0,01	0,31±0,02	3,1
3	ЛПНП	1,95±0,01	1,93±0,01	1,92±0,02	1,94±0,03	1,93±0,02	1,0
4	ЛПОНП	1,04±0,02	1,03±0,02	1,04±0,02	1,02±0,01	1,03±0,01	0,9

Низкие значения коэффициента сорбционной способности показывают отсутствие сорбционной активности. Данные значения могут быть приняты в нашем эксперименте в качестве контроля.

Согласно данным таблицы 2 экспериментальный сорбент «Антилипопротеид» на основе модифицированного полиэтилена, содержащий в составе биоселективный лиганд, обладает достаточно выраженной сорбционной активностью, по сравнению с контролем. Максимальные значения КСС в данном случае 15,7% и 25,4% характеризуют активный процесс сорбции триглицеридов и ЛПНП и ЛПОНП соответственно. Возможно, это связано с большим сродством лиганда (в данном случае хитозана) к ЛПОНП, т.к. они богаты триглицеридами, сродство к которым как показывает данный эксперимент также высокое.

Изучение динамики сорбционного процесса липопротеинов очень низкой плотности хитозансодержащим сорбентом показало, что активный процесс сорбции сохраняется в течение 60 минут эксперимента. Что свидетельствует о высокой ёмкости данного сорбента к ЛПОНП.



**Таблица 2** – Сорбционная активность экспериментального содержащего сорбента «Антилипопротеид»

№ пп	Б\х показатель	Концентрация б\х показателей, ммоль/л					КСС, %
		Время проведения сорбции, мин.					
		0", К1	10" до колонки, К2	10" после колонки, К3	30", К4	60", К5	
1	Триглицериды	2,61±0,04	2,34±0,05	2,25±0,03	2,22±0,05	2,20±0,09	15,7
2	ЛПВП	0,69±0,01	0,66±0,02	0,63±0,02	0,64±0,01	0,63±0,01	9,5
3	ЛПНП	2,41±0,05	2,17±0,07	2,24±0,03	2,23±0,09	2,09±0,11	13,2
4	ЛПОНП	1,18±0,02	1,07±0,03	1,02±0,03	0,95±0,02	0,88±0,04	25,4

В результате исследования были разработан новый перспективный биоспецифический сорбент, состоящий из гемосовместимой полиэтиленовой матрицы, модифицированной акриловой кислотой и содержащий биоспецифический лиганд к ЛПНП и ЛПОНП.

В соответствии с утвержденной программой и методикой приемочных технических испытаний Республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» проведены приемочные технические испытания. Лабораторные исследования гемосорбента, проведены ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья».

Министерство здравоохранения РБ на УП ЦЭИЗ на основании рекомендаций комиссии по изделиям медицинского назначения и медицинской техники приняло решение назначить проведение клинических испытаний гемосорбента «Антилипопротеид» у взрослых пациентов.

#### **Заключение**

В стендовых опытах доказана целевая активность нового экспериментального сорбента «Антилипопротеид»: доказана возможность синтеза биоселективного гемосорбента нового типа, способного эффективно и избирательно извлекать из крови липопротеины низкой и очень низкой плотности; установлено, что сорбент эффективно элиминирует ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП и не оказывает влияния на концентрацию ЛПВП, при этом он имеет низкую стоимость, способ получения этого сорбента является простым, экономичным, не требующим повышенных мер безопасности производства и использования токсичных реагентов.

#### **Литература**

Кирковский, В.В. Физико-химические методы коррекции гомеостаза / В.В. Кирковский. – М : Издательский дом «Русский врач», 2012. – 215 с.

Brown, W.V. Cholesterol absorption inhibitors: defining new options in lipid management / W.V. Brown // Clin Cardiol. – 2003. – Vol.26. – P.259–264.

Экстракорпоральные методы в лечении тяжелых форм атеросклероза, метаболического синдрома и дилатационной кардиопатии / Г.А. Коновалов [и др.] // Кремлевская медицина. – 2001. – №4. – С.48-54.

Low Density Lipoprotein Hemoperfusion by Direct Adsorption of Lipoproteins from Whole Blood (DALI Apheresis): Clinical Experience from a Single Center / T. Bosch [et al.] // Ther. Apher. Dial. – 2006. – Vol. 10. – P. 210-218.

In vitro studies of PBT Nonwoven Fabrics adsorbent for the removal of low density lipoprotein from hyperlipidemia plasma / Y. Cao [et al.] // Appl. Surf. Sci. – 2011. – Vol. 257, № 17. – P. 7521-7528.