

TERAPIA NON FARMACOLOGICA

RUOLO DELLA AFERESI

GIUSTINA DE SILVESTRO, MARIA GRAZIA ZENTI

Introduzione

La dislipidemia, in particolare quando caratterizzata da elevati livelli di colesterolo LDL e/o di Lipoproteina(a) - Lp(a), rappresenta il principale fattore causale della malattia cardiovascolare e della sua progressione. L'armamentario farmacologico ipolipemizzante di cui oggi disponiamo (statine, fibrati, ezetimibe, inibitori di PCSK9, lomitapide) ci permette di realizzare un approccio personalizzato in ciascun paziente per ottenere la riduzione delle lipoproteine aterogene e degli eventi cardiovascolari. Tuttavia, in pazienti con forme genetiche di dislipidemia e negli intolleranti alla terapia farmacologica, non sempre si raggiungono i *target* raccomandati dalle attuali linee guida per una efficace prevenzione o arresto della progressione dell'aterosclerosi. In questo contesto, l'afèresi lipoproteica rappresenta ancora una irrinunciabile opzione terapeutica.

Afèresi lipoproteica

Già nel 1967 De Gennes considerava l'afèresi come opzione terapeutica per il trattamento degli effetti cutanei dell'ipercolesterolemia familiare, definendo la plasmafèresi un "*heroic treatment*".

Lo scambio plasmatico ha rappresentato per anni l'unico strumento di rimozione dell'eccesso di colesterolo LDL per questi

pazienti: lo scambio plasmatico, primo ad essere utilizzato, offre il vantaggio del basso costo del materiale d'uso, dell'elevata efficienza di rimozione, della semplicità di gestione di strumenti e procedura, a scapito del costo biologico elevato, essendo una procedura non selettiva e quindi comportando la perdita di elevate quantità di proteine, fattori procoagulanti, colesterolo-HDL.

Certamente da prediligere sono le metodiche selettive.

Da quel tempo, infatti, la terapia delle ipercolesterolemie familiari è molto cambiata grazie allo sviluppo delle conoscenze tecnologiche, orientate a una sempre maggiore selettività, e di farmaci innovativi, tuttavia l'afèresi terapeutica ancora oggi è il trattamento salvavita nei pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote, e l'ultima frontiera di trattamento nei pazienti con elevati livelli di LDL o di altre frazioni lipoproteiche aterogene, come Lp(a), in cui non vi sia una risposta adeguata alla dieta e alla farmacoterapia ipolipemizzante nel suo complesso, compresi gli inibitori di PCSK9, o quando questa sia controindicata.

Il razionale clinico si fonda sulla relazione fra sviluppo o progressione di malattia cardiovascolare e elevati livelli di colesterolo LDL, dove la diminuzione di questa frazione lipidica gioca un ruolo importante nella riduzione della evoluzione della malattia cardiovascolare.

Tabella 1 - Ipercolesterolemia familiare: Linee guida ASFA.

Ipercolesterolemia familiare	Genetica	Tecnica aferetica	Classe di indicazione	Grado di evidenza
	Omozigote	Aferesi lipoproteica	I	IA
	Omozigote/Eterozigote	Scambio plasmatico	II	IB

Le più recenti linee-guida della Società Americana di Aferesi Terapeutica (ASFA, 2019) (1) considerano l'aferesi lipoproteica una terapia appropriata per il trattamento della ipercolesterolemia familiare con grado diverso di raccomandazione secondo la forma genetica (Tabella 1) e definiscono la procedura come *rimozione selettiva della frazione lipoproteica del sangue con restituzione delle altre componenti ematiche*: le metodiche contemplate da ASFA 2019 sono la doppia filtrazione plasmatica, la precipitazione lipoproteica in ambiente acido e in eccesso di eparina (HELP), l'immunoassorbimento con anticorpi policlonali anti-ApoB, l'adsorbimento plasmatico su colonna di destransolfato, l'adsorbimento su destransolfato di sangue intero, l'adsorbimento di sangue intero su colonna di poliacrilato. Sia nella forma familiare omozigote che nella forma eterozigote lo scambio plasmatico ha un grado di raccomandazione IIB, mentre le tecniche selettive entrano in categoria IA.

In questa trattazione considereremo soltanto i sistemi semiselettivi e selettivi. Il vantaggio principale offerto da queste metodiche è il risparmio biologico, in quanto vengono preservate tutte le sostanze plasmatiche, al di fuori di quelle che intenzio-

nalmente vogliamo rimuovere, in particolare modo i fattori procoagulanti, che in caso di grave riduzione esporrebbero il paziente al rischio di problemi coagulativi. Di vantaggio economico non è possibile parlare, se non per la filtrazione a cascata: per le altre metodiche, maggiori sono la selettività e specificità della rimozione, più è elevato il costo della procedura.

Il nucleo centrale dei sistemi selettivi è rappresentato dal complesso matrice-ligando: per *matrice* si intende il *carrier*, ovvero il supporto inerte a cui è fissato per affinità il *ligando*, cioè la sostanza che di fatto adsorbe il composto che vogliamo rimuovere catturandolo con legame che può essere di tipo chimico, immunologico o elettrostatico. Infine, tutti questi sistemi devono avere caratteristiche di elevata biocompatibilità.

Nella Tabella 2 sono indicati i principali *carrier* utilizzati nei sistemi aferetici selettivi per la rimozione delle lipoproteine con i rispettivi principali ligandi, frazioni lipidiche rimosse e meccanismo di rimozione.

Doppia filtrazione plasmatica (DFPP) o Filtrazione a cascata

Mutuata dalle tecniche di emodialisi, la doppia filtrazione prevede una prima sepa-

Tabella 2 - Principali ligandi nei sistemi di aferesi selettiva.

Ligando	Matrice	Sostanza rimossa	Adsorbimento/Reazione
Acido poliacrilico	Poliacrilamide	LDL, VLDL, Lp(a)	Legame elettrostatico
Destransolfato	Cellulosa	LDL, VLDL, Lp(a)	Legame elettrostatico
Ig specifiche	Sefarosio	LDL, VLDL, Lp(a)	Reazione antigene-anticorpo
Eparina ambiente acido	Policarbonato + dietanolamina-modificata	LDL, VLDL, Lp(a), Fibrinogeno	Precipitazione + filtrazione

razione del plasma dalla componente cellulare ematica, che può essere eseguita mediante centrifugazione o, preferibilmente, filtrazione, e il successivo passaggio del plasma attraverso un filtro a fibre porose, i cui pori consentono il passaggio delle molecole a basso peso molecolare (50-100.000 Da): colesterolo HDL, albumina e immunoglobuline di piccole dimensioni, IgG in prevalenza, mentre LDL, VLDL, Lp(a), chilomicroni e IgM sono trattenuti all'interno del filtro. Si tratta quindi di una tecnica semiselettiva le cui prime applicazioni nel trattamento della ipercolesterolemia risalgono agli anni '70: a distanza di molti anni la metodica è ancora utilizzata per la rimozione del colesterolo-LDL, pur nella sua non ottimale selettività, caratteristica che ne giustifica il costo contenuto rispetto ad altre metodiche con maggiore efficienza ed efficacia (2).

Heparin-induced Extracorporeal LDL-Precipitation (H.E.L.P.)

In laboratorio il dosaggio delle lipoproteine si basa sulle loro caratteristiche chimico-fisiche, tra cui la loro diversa precipitabilità per mezzo di polianioni, come l'eparina e il solfato di destrano: il metodo H.E.L.P. si basa dunque sulla capacità dell'eparina, con carica negativa, di precipitare il colesterolo LDL, che ha carica positiva, in ambiente acido. La separazione del plasma avviene attraverso un filtro a fibre cave: il plasma viene quindi miscelato con una soluzione acida, contenente eparina ad alte dosi, che raggiunge un pH di 5,12, valore al quale l'eparina si lega con il colesterolo-LDL e VLDL, ma anche con fibrinogeno e Lp(a). Il precipitato viene quindi trattenuto da un successivo filtro a setaccio: l'adsorbimento mediante una cartuccia dell'eparina in eccesso e il successivo ripristino del pH fisiologico completano la procedura. Il sistema è indubbiamente complesso, ma la computerizzazione della procedura e l'efficacia com-

provata anche per applicazioni diverse dall'ipercolesterolemia familiare ne motivano l'utilizzo ancora attuale (3).

Immunoassorbimento (IA)

Anche in questo caso, dopo la prima separazione dalla componente cellulare, il plasma viene adsorbito su una colonna di sefariosio, matrice insolubile, al quale sono legati anticorpi policlonali anti-LDL di origine ovina (ligando). L'anticorpo è specifico per le ApoB e il legame ne consente l'eliminazione assieme alle LDL, IDL e Lp(a). L'IA è uno dei sistemi di rimozione più efficienti, ma è gravato da alti costi.

Adsorbimento plasmatico su destran-solfato

Analogamente all'eparina, anche il destran-solfato è un polianione in grado di legare e far precipitare le lipoproteine. Il destransolfato è montato su un supporto di sfere di cellulosa: l'ApoB con carica positiva si lega al destran-solfato con carica negativa, rimanendo catturata nel filtro.

La separazione del plasma dalla componente cellulare ematica avviene per filtrazione, tuttavia, a seconda delle dimensioni delle sfere di cellulosa, il sistema può lavorare su plasma o su sangue intero (emoperfusione).

Adsorbimento su poliacrilato

Si tratta di una metodica di emoperfusione e anche in questo caso il legame del colesterolo con il ligando è di tipo elettrostatico. Il poliacrilato, su supporto di poliacrilamide, ha carica negativa ed è quindi in grado di catturare l'ApoB-100 a carica positiva: si rimuovono colesterolo-LDL, VLDL e Lp(a). In entrambe i casi, con destran-solfato o poliacrilato, le tecniche di emoperfusione offrono l'indubbio vantaggio di essere molto più semplici nell'allestimento e nella gestione, oltre a prevedere tempi di esecuzione molto più brevi.

Tutte le tecniche considerate, dallo scambio plasmatico all'emoperfusione, hanno livelli di efficienza comparabili nella rimozione del colesterolo e delle sue frazioni. Di seguito si riportano i dati di efficienza media dell'afèresi lipoproteica selettiva secondo le esperienze rispettivamente di Italia, Germania e Stati Uniti, considerando il trattamento di almeno un volume plasmatico o un volume ematico in caso di emoperfusione (Tabella 3).

La rimozione del fibrinogeno, associata alla rimozione del colesterolo, potrebbe avere un ruolo positivo: è stato dimostrato che la rimozione del fibrinogeno e del colesterolo dopo un bypass coronarico può prevenire l'occlusione precoce dell'innesto, principale complicanza a breve termine di questo intervento. Non solo, ma si apre anche la possibilità di altri utilizzi della metodica in ambito reologico, come già anticipato (3). Per quanto riguarda lo scambio plasmatico, l'efficienza di rimozione è certamente elevata, ma nella rimozione sono coinvolti anche il colesterolo HDL, le immunoglobuline, oltre ai fattori pro coagulanti labili, motivo per cui è preferibile fare ricorso alle metodiche selettive, il cui risparmio in termini biologici è assolutamente confermato.

Infine, un cenno agli eventi avversi legati all'afèresi lipoproteica. Sulla scorta dei dati di letteratura, confermati dal Registro Italiano di Afèresi Terapeutica periodicamente pubblicato (4), l'afèresi lipoproteica può essere considerata una procedura terapeutica con alti livelli di sicurezza: gli eventi avversi registrati sono in percentuale estremamente bassa (1-3%), e nella mag-

gior parte dei casi si è trattato di eventi lievi (4, 5).

Il ruolo dell'Afèresi oggi

Con l'introduzione nella pratica clinica di nuove classi di farmaci ipolipemizzanti (in particolare gli inibitori di PCSK9 e lomitapide), un gran numero di pazienti con ipercolesterolemie familiari ha potuto ridurre la frequenza dei trattamenti aferetici e in alcuni casi sospenderli. Tuttavia, ci sono ancora molte condizioni cliniche in cui l'Afèresi (A) rappresenta una terapia salvavita.

Ipercolesterolemia Familiare Omozigote (HoFH)

Nei pazienti HoFH l'A va iniziata in età pediatrica, in centri altamente specializzati, appena il piccolo paziente può tollerare la procedura extracorporea. Questa strategia di intervento ha significativamente aumentato la sopravvivenza nei paesi, come l'Italia, in cui l'A viene iniziata precocemente, rispetto ai paesi in cui questa terapia non può essere offerta. Il Sino-Roman Study ha valutato gli *outcomes* cardiovascolari e la mortalità di pazienti HoFH in due paesi con diverso utilizzo dell'A (il centro di Beijing in Cina e il centro specializzato nei trattamenti aferetici di Roma) (6). I 44 pazienti HoFH cinesi sono stati trattati solo con farmaci ipolipemizzanti (statine ed ezetimibe), mentre i 18 HoFH del centro di Roma sono stati tutti trattati sia con A (età media dell'inizio del trattamento $8,9 \pm 5,5$ anni) che con la terapia ipolipemizzante (statine, ezetimibe, fibrati e lomitapide). Dopo 30 anni

Tabella 3 - Rimozione del colesterolo (vari autori, modificato).

	LDL	HDL	Lp(a)	Fibrinogeno
Stefanutti C, et al. 2012 (4)	67%	16%	56%	30%
Grutzmacher P, et al. 2012 (5)	56-70%	6-21%	43-58%	28-37%
Winters JL	62%	18%	n.r.	n.r.

di follow-up le curve *CVD-free* e di sopravvivenza erano significativamente ridotte nella coorte di pazienti cinesi rispetto alla coorte italiana. Lo studio ha chiaramente dimostrato che gli *outcome* cardiovascolari in pazienti HoFH possono essere migliorati con una precoce e potente riduzione dei livelli di LDL-colesterolo grazie al trattamento combinato di farmaci e A.

Lomitapide, che trova indicazione negli HoFH con età >18 anni, ha rappresentato una importante innovazione terapeutica per la possibilità di portare a *target* questa categoria di pazienti, e per il miglioramento della loro qualità di vita. Lo studio italiano *real life* su una coorte di 15 pazienti HoFH, ha confermato l'efficacia e la sicurezza di questo agente ipolipemizzante, che ha consentito di sospendere l'aferesi in 8 pazienti su 10 (7). Tuttavia, nei pazienti in cui lomitapide non è tollerato o è controindicato, l'A rimane la terapia di elezione.

Ipercolesterolemia Familiare Eterozigote (HeFH)

Gli anticorpi anti PCSK9 rappresentano oggi una formidabile opzione terapeutica

per i pazienti HeFH. Nello studio ODISEY ESCAPE (8) l'A è stata sospesa nel 63,4% dei pazienti nel braccio di trattamento con alirocumab. Anche nella nostra esperienza clinica l'introduzione dei PCSK9-inibitori (PCSK9i) ha permesso di sospendere l'A mantenendo un adeguato controllo dei livelli di colesterolo LDL (9), tuttavia il nostro studio ha anche messo in evidenza come l'aferesi sia più efficace dei PCSK9i nel ridurre i livelli di Lp(a) (-69% vs -12%) e i livelli di PCR (-60,1% vs +36,4%). Rimane inoltre la criticità del trattamento di pazienti intolleranti alle statine che risultano "poor-responder" o "non-responder" ai PCSK9i: in questa categoria di pazienti la terapia di associazione A e PCSK9i mostra un significativo effetto sinergico nella riduzione del col-LDL (10).

Lipoproteina (a) iperlipoproteinemia - IperLp(a)

Attualmente l'A rappresenta l'unica terapia efficace per i pazienti con iperLp(a) e cardiopatia ischemica, come dimostrato anche nell'esperienza italiana del GILA (Gruppo Interdisciplinare aferesi Lipopro-

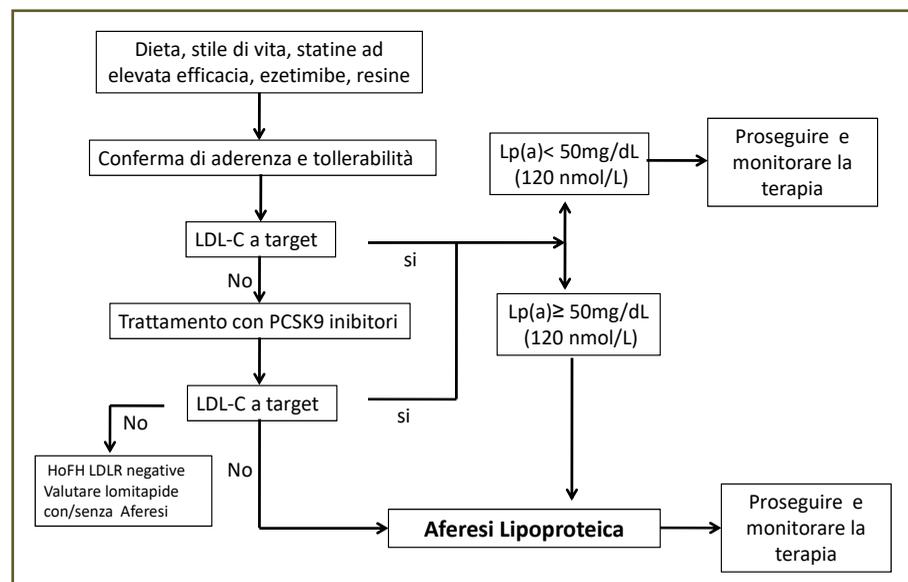


Figura 1 - Algoritmo di trattamento nei pazienti a rischio cardiovascolare alto e molto alto. Il dosaggio di Lp(a) risulta cruciale per l'indicazione al trattamento aferetico. L'effetto sinergico dell'aferesi con le nuove classi di farmaci ipolipemizzanti (Lomitapide o PCSK9i) permette di raggiungere i target raccomandati e può consentire di ridurre la frequenza dei trattamenti aferetici (dal trattamento settimanale al trattamento ogni 2 settimane). (Adattata da Stefanutti, Zenti. *Current Pharmaceutical Design* 2018; 24: 1-4.).

teicA) (11). In attesa che nuove strategie farmacologiche specifiche per la riduzione di Lp(a) divengano disponibili, l'associazione dell'A con i PCSK9i ha lo scopo di ridurre la frequenza dei trattamenti aferetici migliorando la qualità di vita dei pazienti (12).

Il dosaggio dei livelli di Lp(a) è oggi raccomandato in tutti i soggetti ad alto rischio cardiovascolare, per pianificare la strategia di cura che prevede anche l'integrazione dell'A con i farmaci attualmente disponibili secondo un algoritmo proposto nella *figura 1* (13).

Quale potrà essere il futuro dell'aferesi lipoproteica? Certamente, l'avvento dei nuovi farmaci farà sì che molti più pazienti ne potranno beneficiare, e passeranno dall'A alla terapia farmacologica, con una qualità di vita certamente migliore. Questo è il destino di tutta l'aferesi terapeutica, una terapia "di transito" in attesa della scoperta o della introduzione di farmaci specifici. L'A avrà sempre comunque un ruolo per quei pazienti per cui i farmaci siano controindicati o verso i quali il paziente abbia manifestato intolleranza. L'indubbio ulteriore vantaggio dell'A è il costante controllo medico: la frequentazione periodica e costante di un centro di terapia aferetica costituisce una solida "alleanza" medico-paziente che può rappresentare un *plus* da non sottovalutare in particolari condizioni.

Bibliografia

1. Padmanabhan A, Connely-Smith L, Aqui N, et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-based Approach from the Writing Committee of American Society for Apheresis: The Eight Special Issue. *J Clin Apher.* 2019; 34: 171-354.
2. Sanchez AP, Cunard R, Ward DM. The Selective Therapeutic Apheresis Procedures. *J Clin Apher.* 2013; 28: 20-29.
3. Park JW, Matschke K, Mrowietz C, et al. HELP-(heparin-induced Extracorporeal LDL Precipitation)-apheresis in heart recipients with cardiac allograft vasculopathy and concomitant hypercholesterolemia: Influence of long-term treatment on the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019; 73: 19-27.
4. Schettler VJJ, Neumann CL, Peter C, et al. First data from the German Lipoprotein Apheresis Registry (GLAR). *Atherosclerosis Supplements.* 2015; 18: 41-44.
5. De Silvestro G, Tison T. Italian Registry of Therapeutic Apheresis. *Transfus Apher Sci.* 2018; 57: 143-147.
6. Stefanutti C, Pang J, Di Giacomo S, et al. A cross-national investigation of cardiovascular survival in homozygous familial hypercholesterolemia: The Sino-Roman Study. *Journal of Clinical Lipidology.* 2019; 13: 608-617.
7. D'Erasmo L, Cefalu AB, Noto D, et al. Efficacy of lomitapide in the treatment of familial homozygous hypercholesterolemia: results of a real-world clinical experience in Italy. *Adv Ther.* 2017; 34: 1200-1210.
8. Moriarty PM, Pahofer KG, Babirak SP, et al. Alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia undergoing lipoprotein apheresis: the ODYSEEY ESCAPE trial. *Eur Heart J.* 2016; 37: 3588-3595.
9. Zenti MG, Altomari A, Lupo MG, et al. From lipoprotein apheresis to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors: impact on low-density lipoprotein cholesterol and C reactive protein levels in cardiovascular disease patients. *European J of Preventive Cardiology.* 2018; 25: 1843-1851.
10. Zenti MG, Stefanutti C, Sanga V, et al. Evolocumab and lipoprotein apheresis combination therapy may have a synergic effect to reduce low-density lipoprotein cholesterol levels in heterozygous familial hypercholesterolemia: A case report. *J Clin Apher.* 2018; 33: 546-550.
11. Bigazzi F, Sbrana F, Berretti D et al. Reduced incidence of cardiovascular events in hyper-Lp(a) patients on lipoprotein apheresis. The G.I.L.A (Gruppo Interdisciplinare Aferesi Lipoproteica) pilot study. *Transfusion and Apheresis Science.* 2018. doi: 10.1016/j.transci.2018.07.015
12. Ruscica M, Watts GF, and Sirtori C. PCSK9 monoclonal antibodies and lipoprotein apheresis for lowering lipoprotein(a): making choice in an era of RNA-based therapies. *European Journal of Preventive Cardiology.* 2019; 26: 998-1000.
13. Stefanutti C and Zenti MG. Lipoprotein Apheresis and PCSK9-Inhibitors. Impact on atherogenic lipoproteins and anti-inflammatory mediators in Familial Hypercholesterolemia. *Current Pharmaceutical Design.* 2018; 24: 1-4.