



## UPDATE IN AFERESI TERAPEUTICA

- 9.30 Reoferesi nella moderna pratica aferetica
- 10.00 Aferesi e piede diabetico
- 10.30 Aferesi e malattie infiammatorie croniche dell'intestino
- 11.00 *Coffee Break*
- 11.30 Aferesi terapeutica e trapianto d'organo solido
- 12.00 Aferesi terapeutica in gravidanza
- 12.30 Aferesi terapeutica nel paziente pediatrico

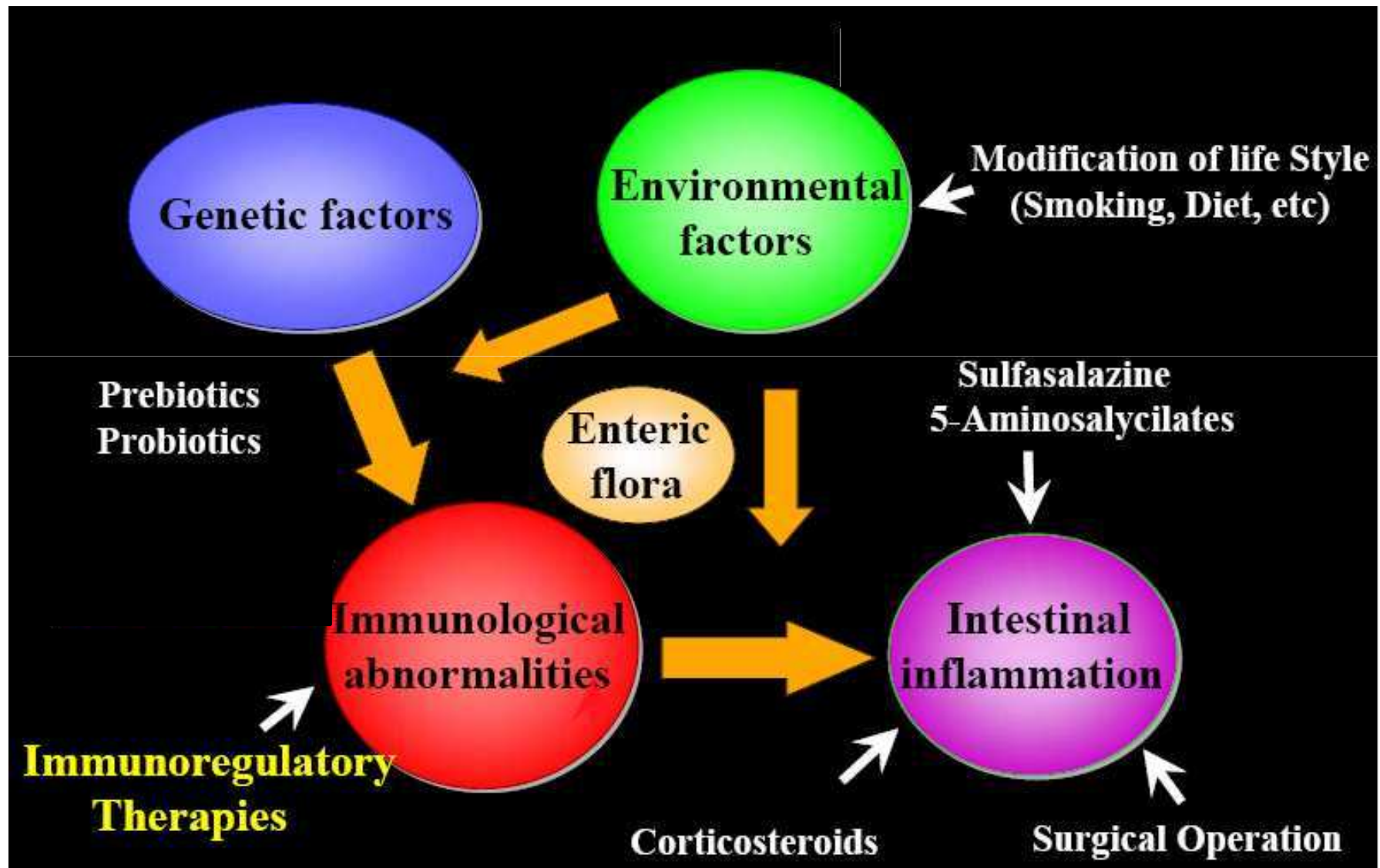
Stefano Passalacqua

U.O. aferesi terapeutica  
C.I.Columbus-U.Cattolica S.Cuore  
Roma

## Malattie infiammatorie croniche intestino: MICI

- **Colite ulcerosa (CU):** infiammazione recidivante limitata al colon, interessa gli strati superficiali della parete intestinale.  
**Malattia di Crohn(MC):** interessa tutto lo spessore della parete enterica, coinvolge tutto l'intestino, dalla bocca all'ano.
- **Alta prevalenza** in America ed Europa del nord (230/100.000 ab) che diminuisce scendendo verso il sud. Bassa prevalenza in Asia e Africa.
- **Picco di incidenza** tra 15-30 aa, 2° picco tra 50-80 aa. Incidenza delle due malattie è oggi, approssimativamente equivalente.
- **Ezio-patogenesi** non ancora conosciuta. Progressi negli ultimi 10 anni.
- **Terapia** attuale non soddisfacente. Progressi negli ultimi anni.

# MICI: patogenesi

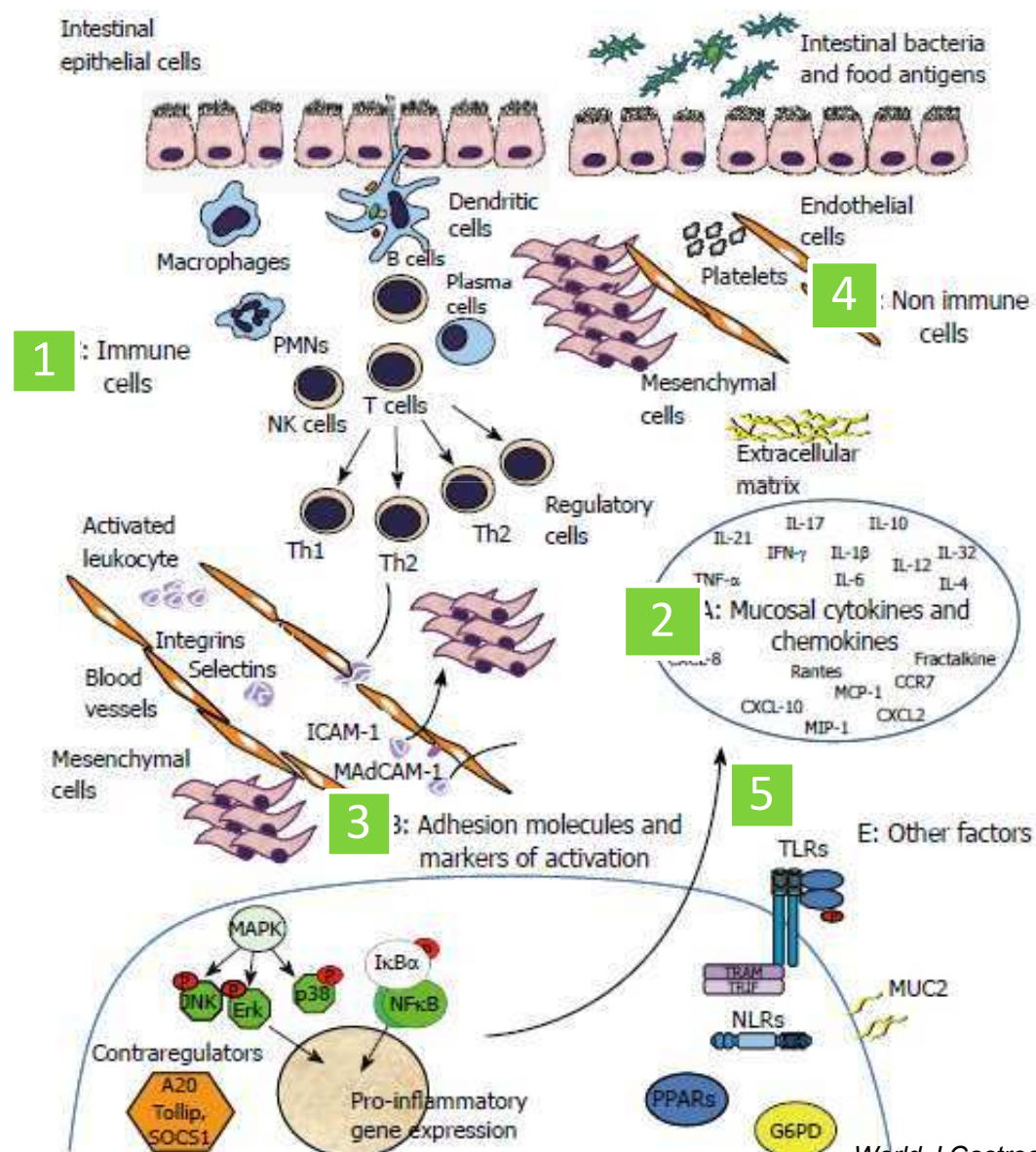


## MICI: patogenesi- 4 fattori coinvolti

- **Fattori genetici:** aumentano o riducono la suscettibilità per MICI. Genome Wide Association Studies (GWSA) ha descritto 100 loci di suscettibilità.
- **Fattori ambientali:** fumo, dieta, obesità, appendicectomia, gastroenteriti acute, sindrome del colon irritabile, antibiotici, contraccettivi.
- **Flora batterica intestinale:** alta concentrazione di organismi nell'ileo distale e nel colon(1000 specie). Può promuovere MICI in contesto di aumentata suscettibilità (genetica, immunologica, anatomica, ambientale).
- **Compromissione immunitaria:** Disregolazione del sistema immunitario innato e adattativo, Inappropriata risposta immunitaria verso organismi intestinali normalmente innocui.



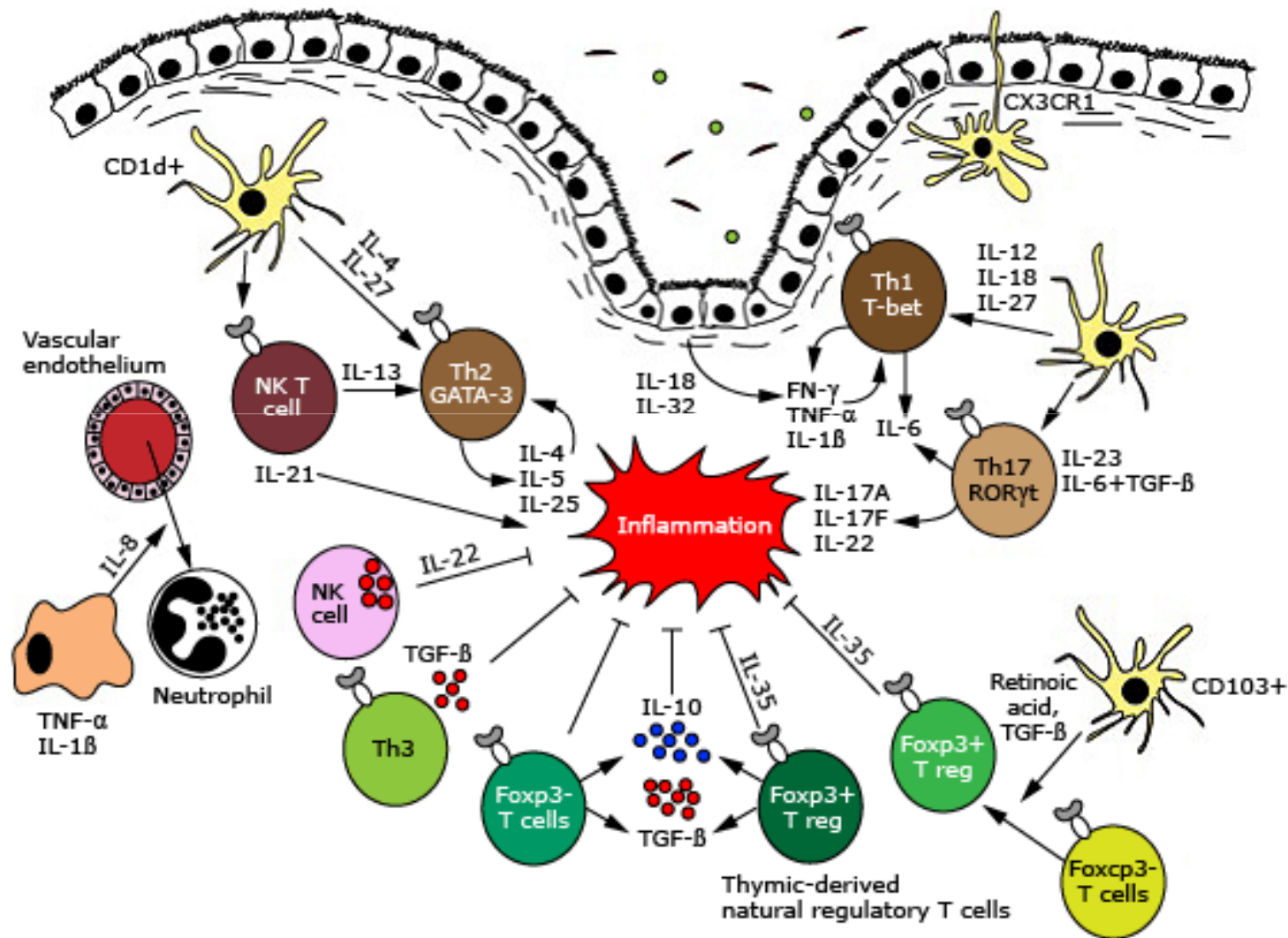
# Mucosal markers: inflammatory bowel disease



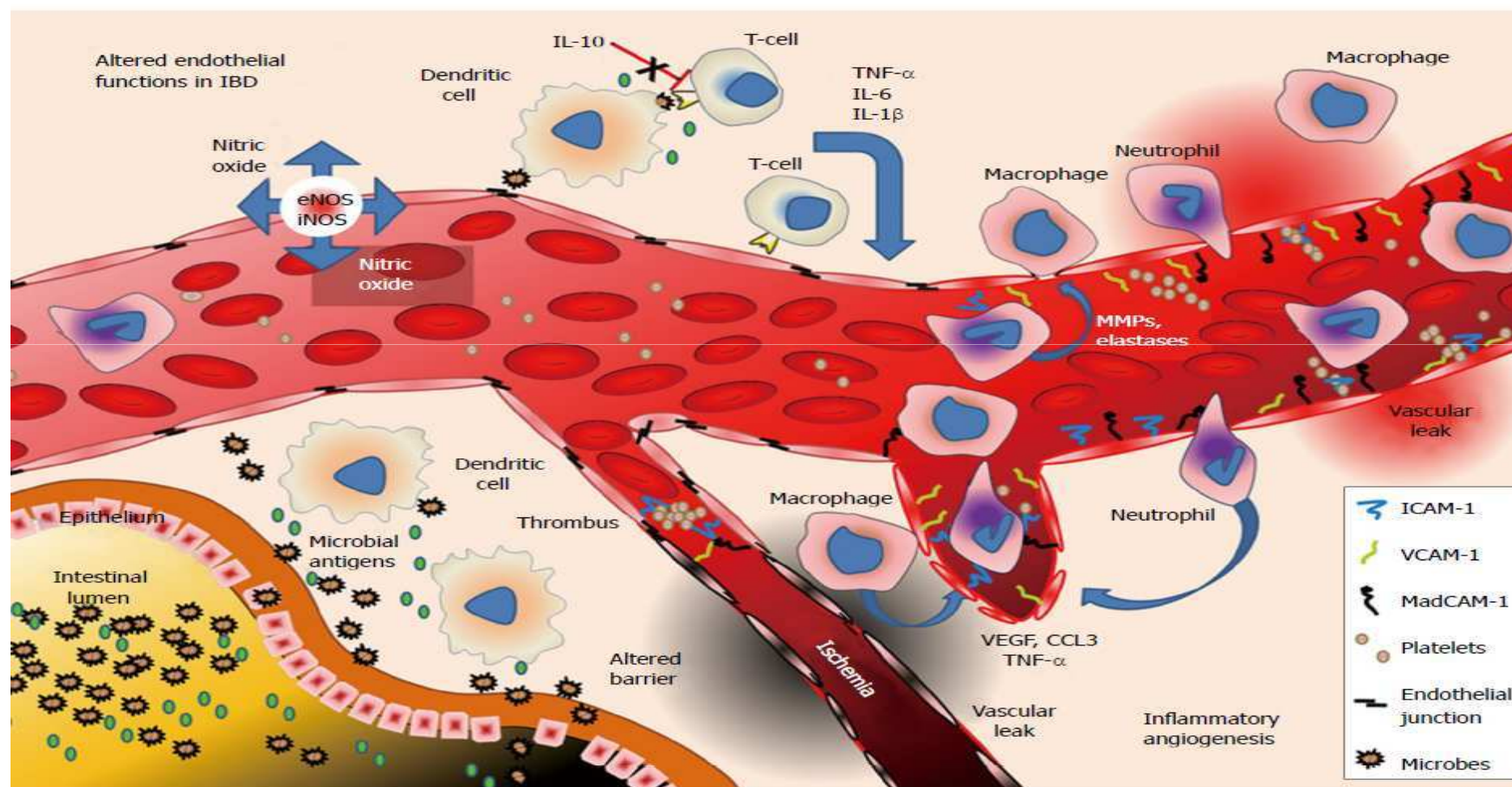
## Patogenesi: alterata risposta immunitaria

- **Cellule presentanti Atg:** esagerata/disregolata stimolazione dei linfociti indifferenziati Th CD4.
- **Organi linfoidei secondari:** attivazione delle sottopopolazioni cellulari Th1, Th2, Th17, Treg. Espressione di recettori che ne coordinano la migrazione ( $\alpha 4\beta 7$ -CCR9) nel sito infiammatorio.
- **Neutrofili (CD10+)-monociti (CD14+CD16+),** iper-produzione di citochine infiammatorie, fattori di crescita e pro-angiogenetici (TNF $\alpha$ , VEGF, IL-1 $\beta$ , IL-12...).
- **Vasi infiammati-vasi neoformati:** funzione endoteliale alterata, iper-espressione molecole di adesione, aberrante traffico leucocitario, secrezione citochine, piastrine attivate, Toll Like R ...
- **Sito infiammatorio:** Th1/Th2 alterato rapporto-presenza di Th17-ridotta presenza di Tregolatori.

# Patogenesi: differenziazione dei linfociti CD4+









# MICI: opzioni terapeutiche emergenti

## Farmaci Biologici

- **Anti-TNF:** infliximab, adalimumab, certolizumab pegol
- **Anti-molecole di adesione (anti-integrine) :** natalizumab, alicaforsen, vedolizumab.
- **Immunostimolatori:** sargramostim (GM-CSF), filgrastin (GCSF),
- **Inibitori della polarizzazione di T-cell:** fontolizumab, ustekinumab.
- **Inibitori della proliferazione di T-cell:** visilizumab, basiliximab, daclizumab.

## Leucocitoaferesi

- **Centrifugazione** selettiva
- **Filtrazione** su colonna Cellsorba (ASAHI)
- **Adsorbimento** su colonna Adacolumn (Otsuka)

# Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice—Evidence-Based Approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis

## INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

**Incidence:** 2–20 per 100,000/year

**Procedure**  
Adsorptive cytapheresis

**Recommendation**  
Grade 2B

**Category**  
II

**# of reported patients\*:** >300

**RCT**  
9 (721)

**CT**  
4 (183)

**CS**  
12 (881)

**CR**  
NR

**Type of evidence**  
Type I

### Technical notes

Two types of selective apheresis devices are the Cellsorba™ (Asahi Medica, Tokyo, Japan) which is a column containing cylindrical non-woven polyester fibers and the Adacolumn® (JIMRO, Japan) which contains cellulose acetate beads. Both require anticoagulation (heparin/ACD-A and heparin alone, respectively) to remove granulocytes and monocytes from venous whole blood by filtration/adhesion. For Cellsorba™, venous whole blood is processed at 50 mL/min through the column for 60 minutes. Some platelets and lymphocytes are also removed by this column. For Adacolumn®, venous whole blood is processed at 30 mL/min for 60 minutes. The Adacolumn® is relatively selective for removing activated granulocytes and monocytes. Patients taking ACE inhibitors should not undergo treatment with Adacolumn®. Cellsorba™ and Adacolumn® are currently available in Europe and Japan. The two columns have been compared in a prospective clinical trial that demonstrated equivalent response in patients with moderate-to-severe active UC.

**Volume treated:** 1,800 mL (Adacolumn®) or 3,000 mL (Cellsorba™)

**Frequency:** once per week, more intensive therapy may include 2 per week

**Replacement fluid:** not applicable

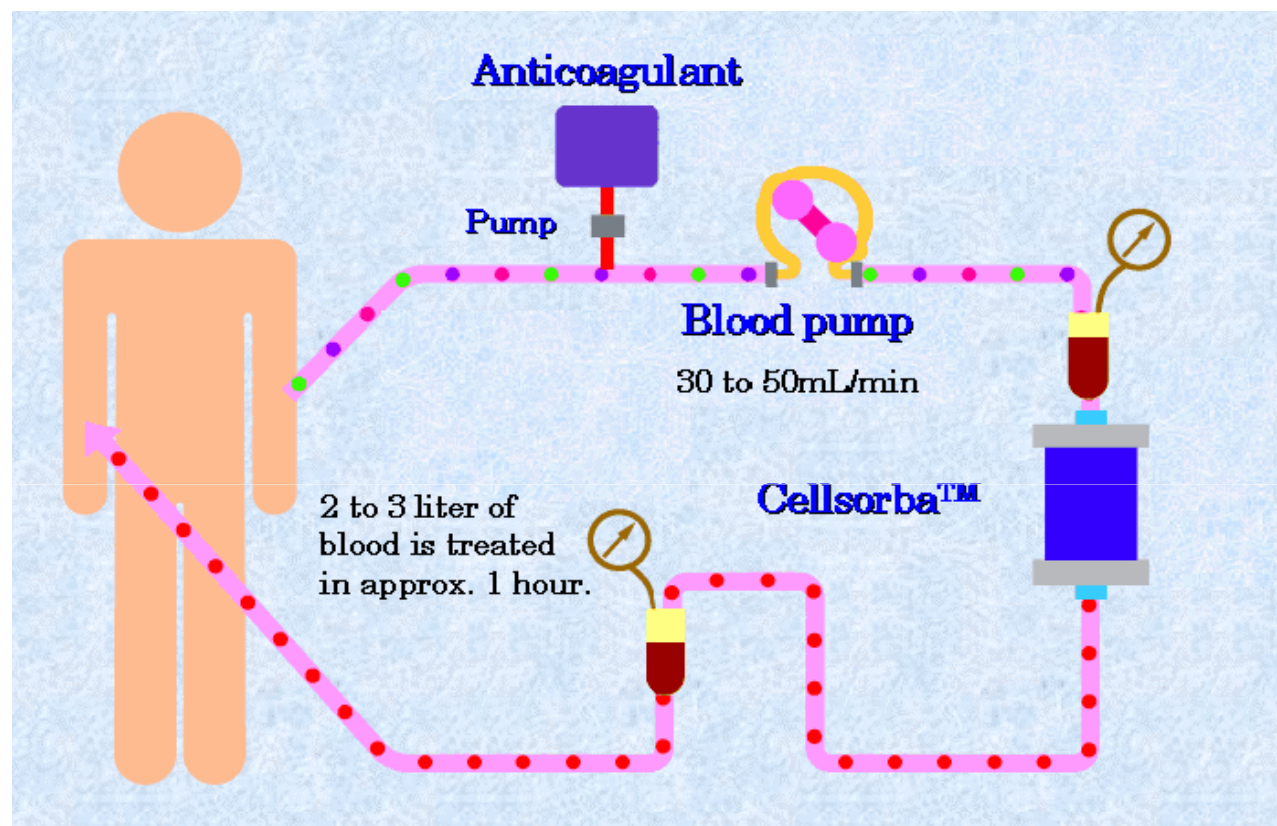
### Duration and discontinuation/number of procedures

The typical length of treatment is 5–10 weeks for Adacolumn® and 5 weeks for Cellsorba™.

## MICI: Razionale per leucocito-aferesi

- Neutrofili (CD10+) e monociti (CD14+CD16+) circolanti nelle MICI attive, sono espressi in numero elevato.
- Neutrofili e monociti sono la sorgente principale di citochine pro-infiammatorie come  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$ , IL-6, IL-12, IL-17 e IL-23 che svolgono ruolo primario nell'indurre e perpetuare la malattia.
- I linfociti circolanti sono in quantità inferiore rispetto alla norma, rapporti alterati delle sottopolazioni.

# Schema trattamento con filtro Cellsorba -ASAHI



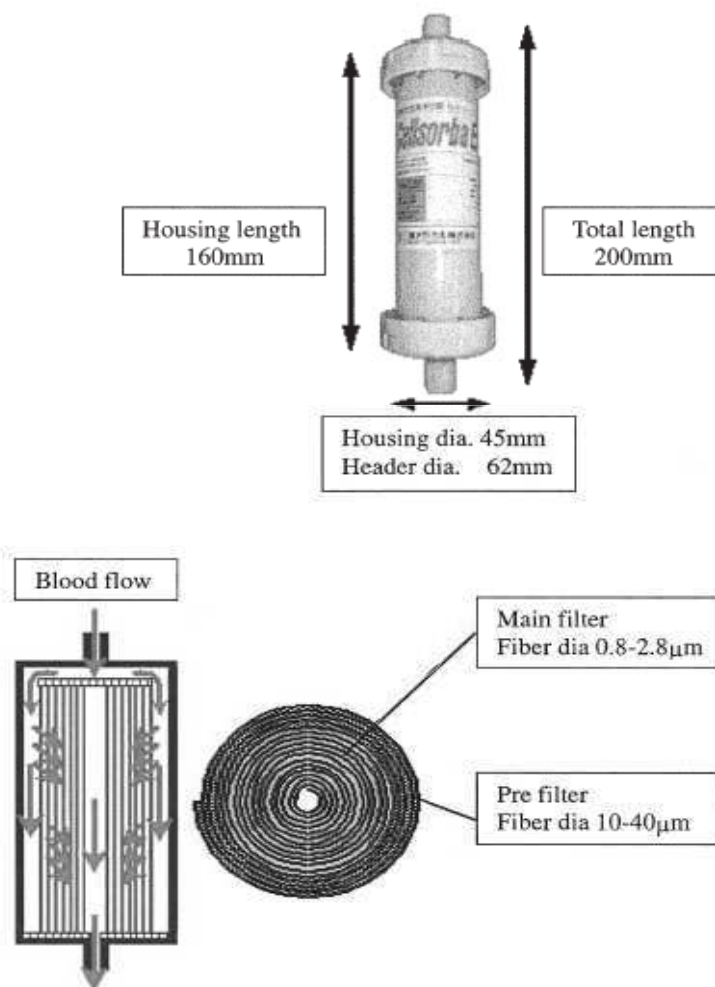
Journal of Clinical Apheresis 26:326-331(2011)

**Optimal Apheresis Treatment Volume for the Efficacy and Safety of Leukocytapheresis with Cellsorba in Patients With Active Ulcerative Colitis**

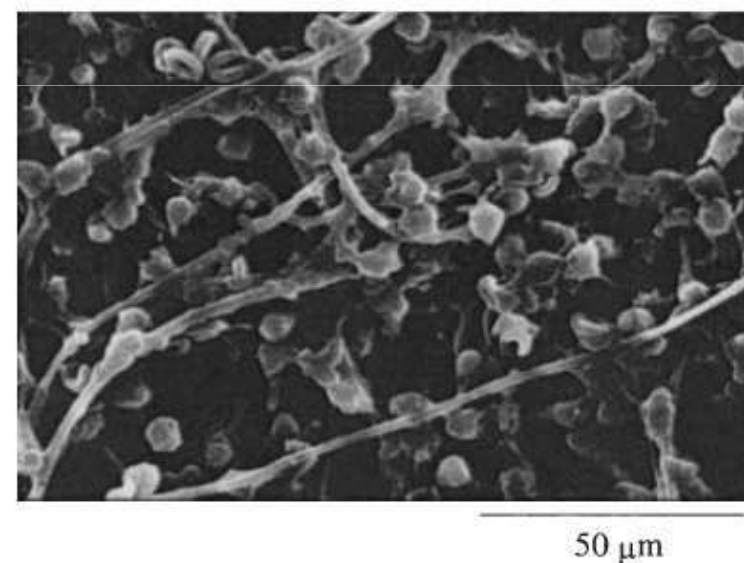
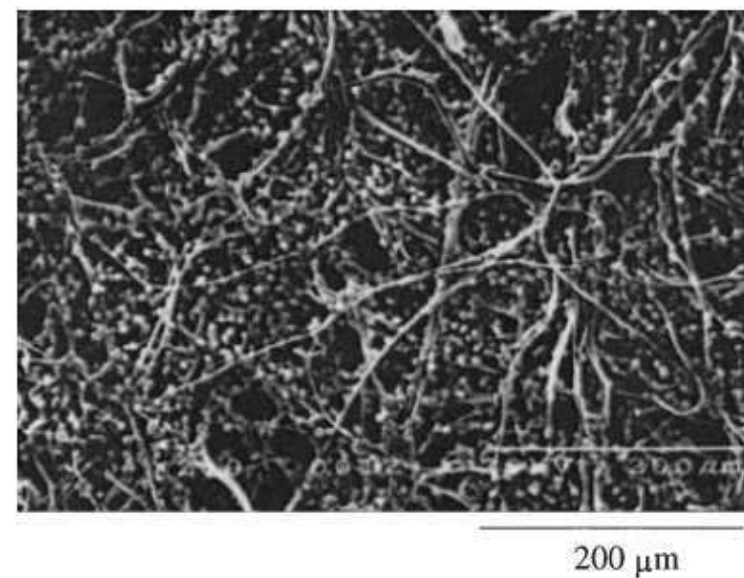
Ther Apher Dial. 2011 Aug;15(4):355-9.  
**Effect of various anticoagulant agents on large-volume leukocytapheresis using new Cellsorba CS-180S Filter.**



Rimuove: granulociti , monociti: 100%  
linfociti: 65%  
piastrine: 35%



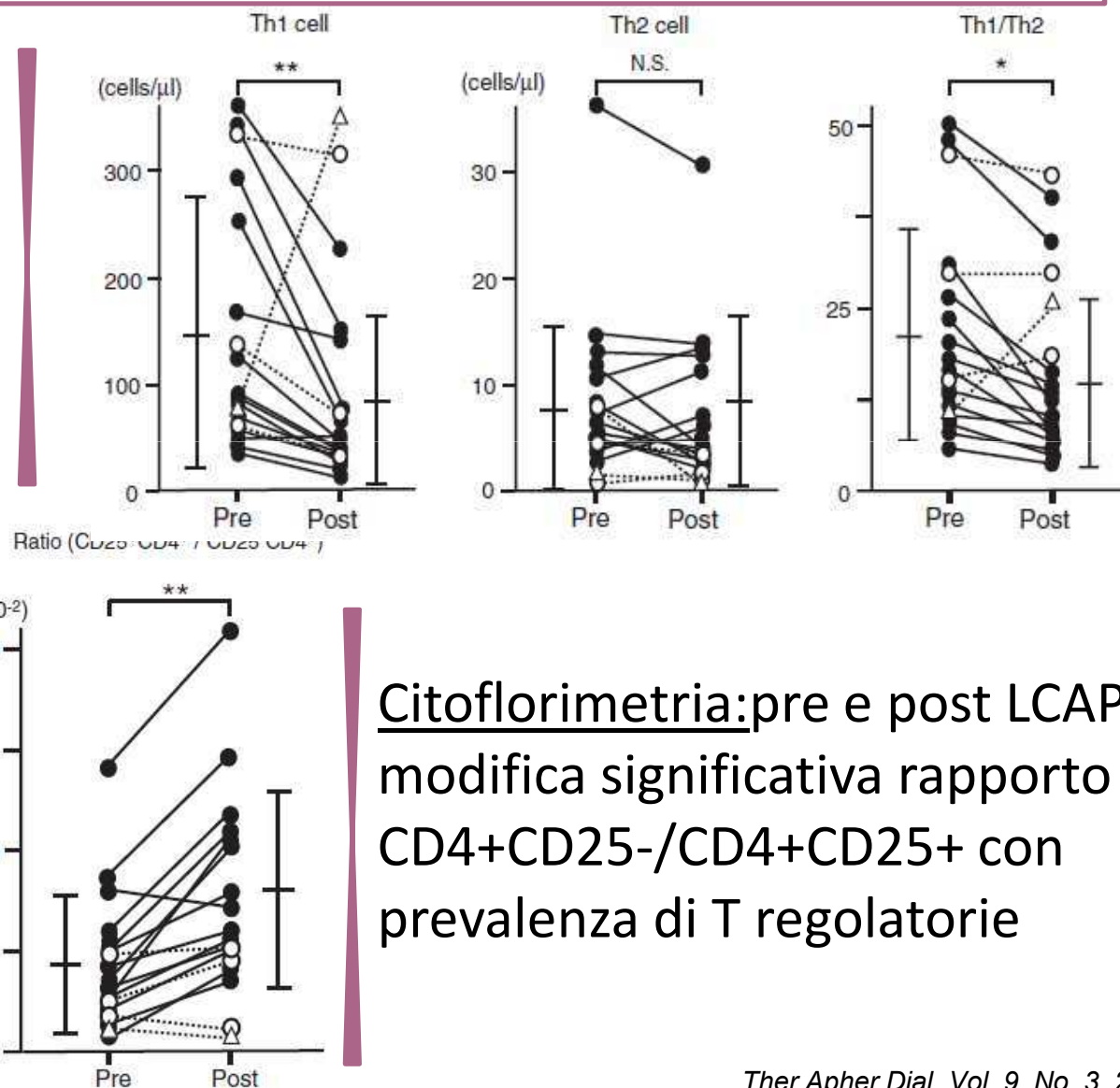
**FIG. 1.** Cellsorba. Blood flow at vertical cross section and horizontal cross section of filter.



**FIG. 2.** Adsorbed leukocytes observed with scanning electron microscope.

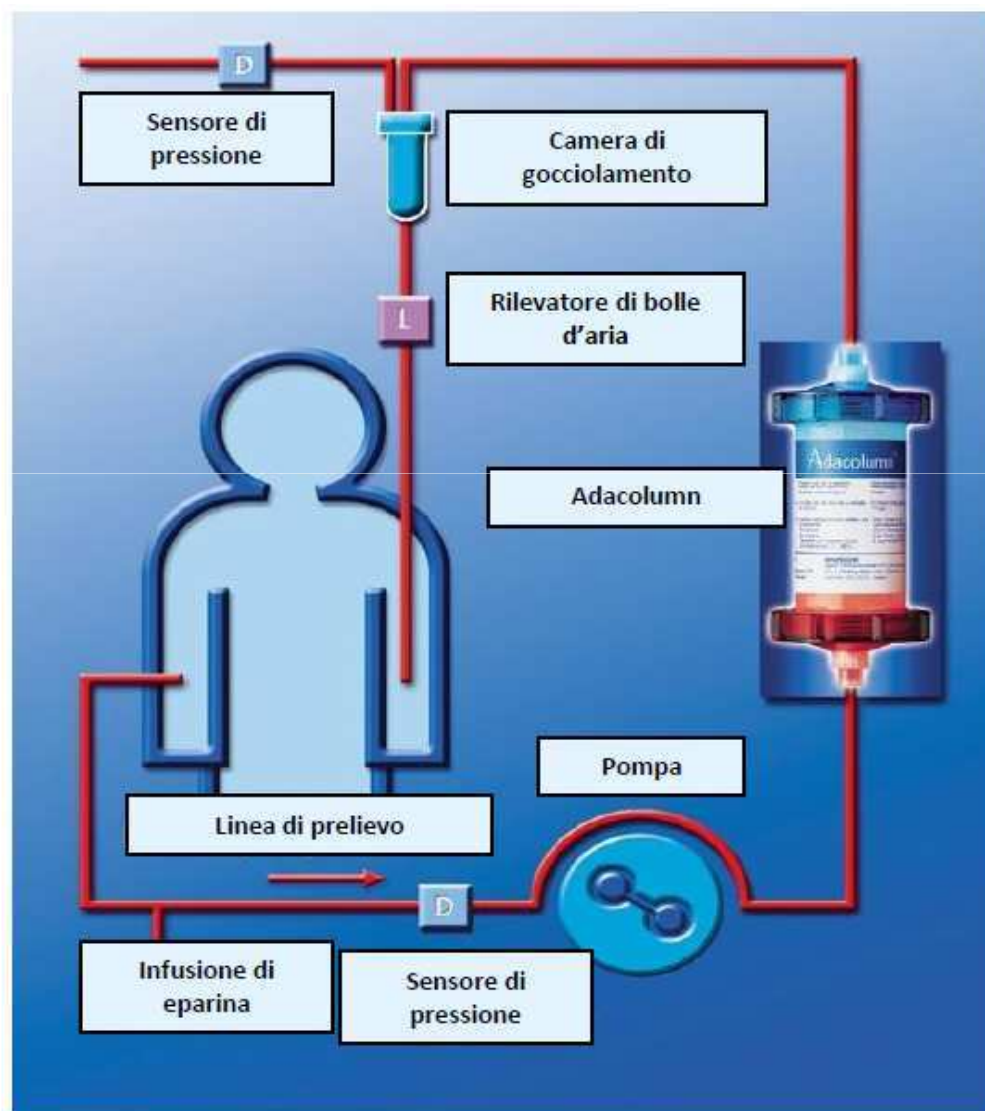
## Leukocytapheresis Therapy Modulates Circulating T cell Subsets in Patients With Ulcerative Colitis

Citoflorimetria  
pre e post LCAP:  
riduzione linea Th1,  
e rapporto Th1/Th2



Citoflorimetria:pre e post LCAP  
modifica significativa rapporto  
CD4+CD25-/CD4+CD25+ con  
prevalenza di T regolatorie

# Granulocito-Monocito Aferesi (GMA) OTSUKA



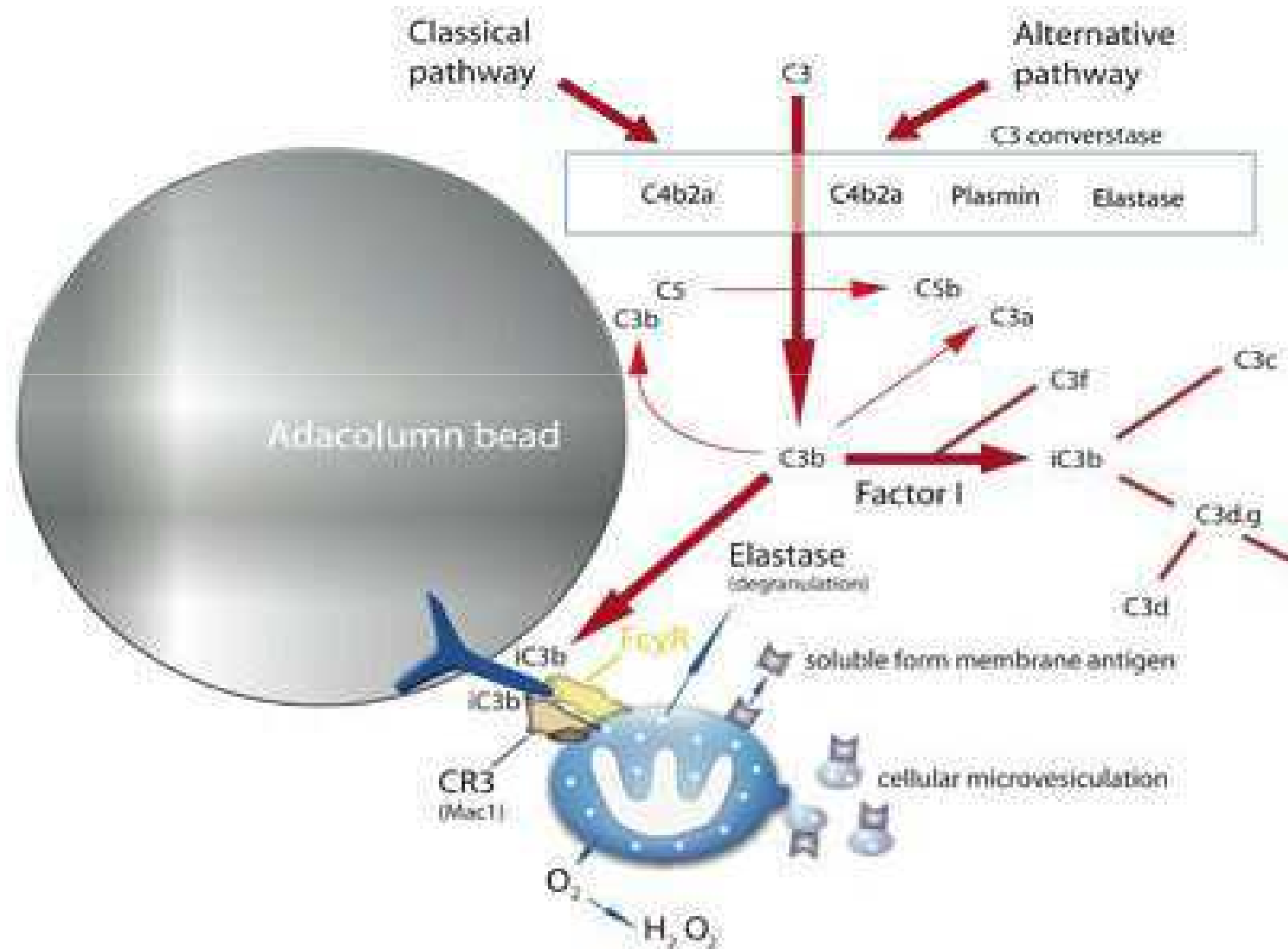
## Struttura

35.000 sfere di acetato di cellulosa (220 gr) diluite in 130 ml soluzione salina isotonica. Contenute in cartuccia di policarbonato

## Ciclo terapeutico

5 trattamenti:  
1/settimana, consecutivi  
Flusso sangue 30ml/m,  
durata 60 m

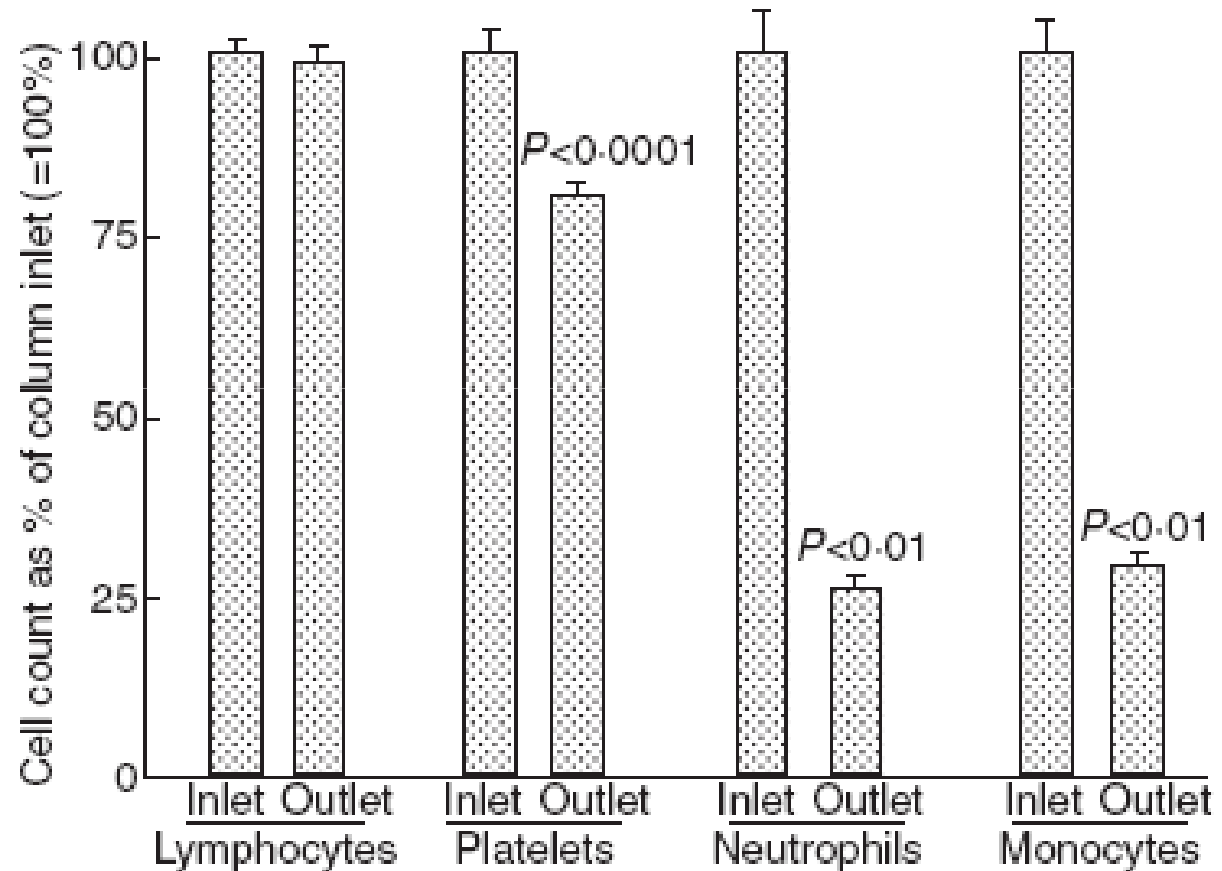
# GMA: meccanismo di azione 1





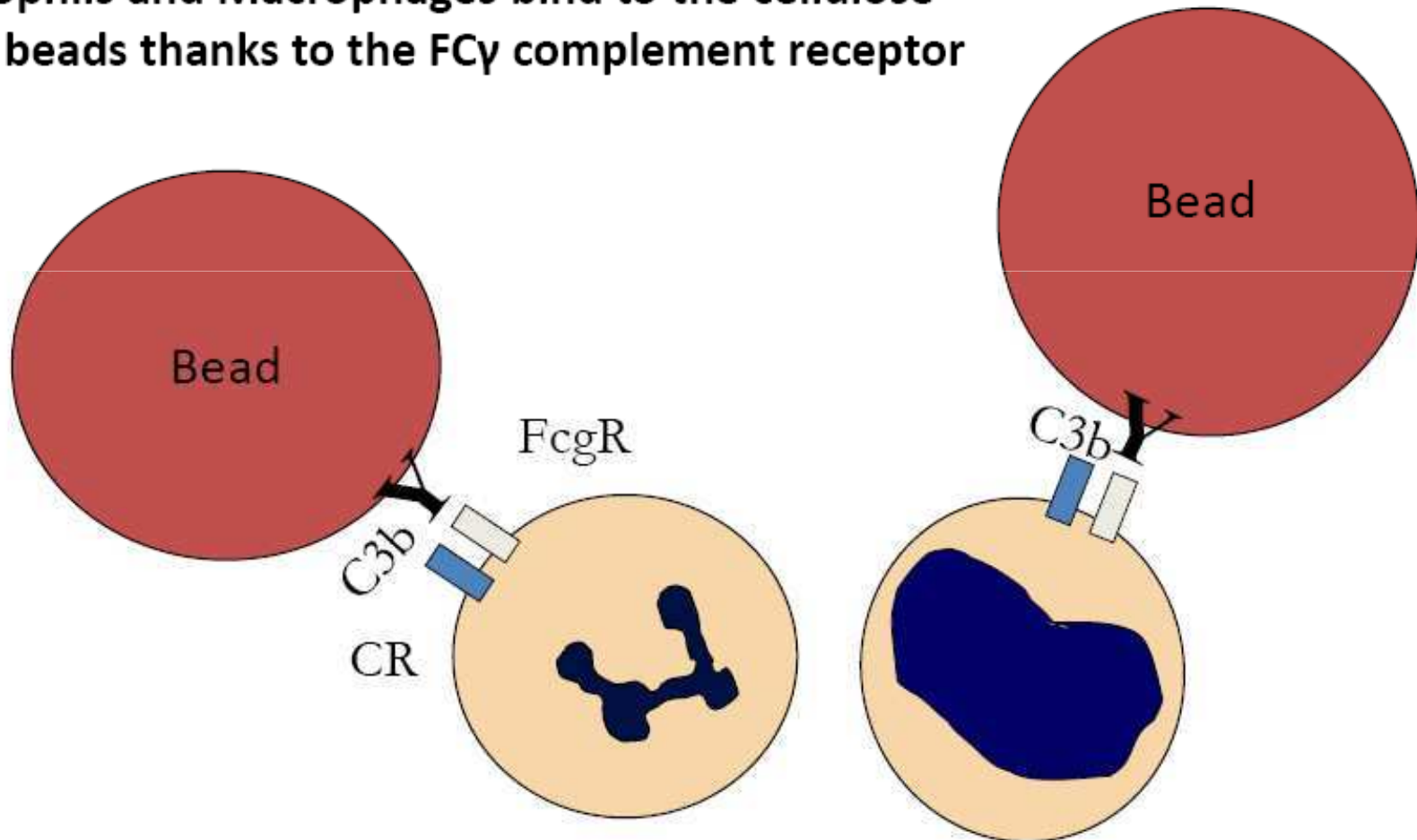
The mode of actions of the Adacolumn therapeutic leucocytapheresis in patients with inflammatory bowel disease: a concise review

GMA rimuove:  
Linfociti 2-6%  
Granulociti 65%  
Monociti 55%



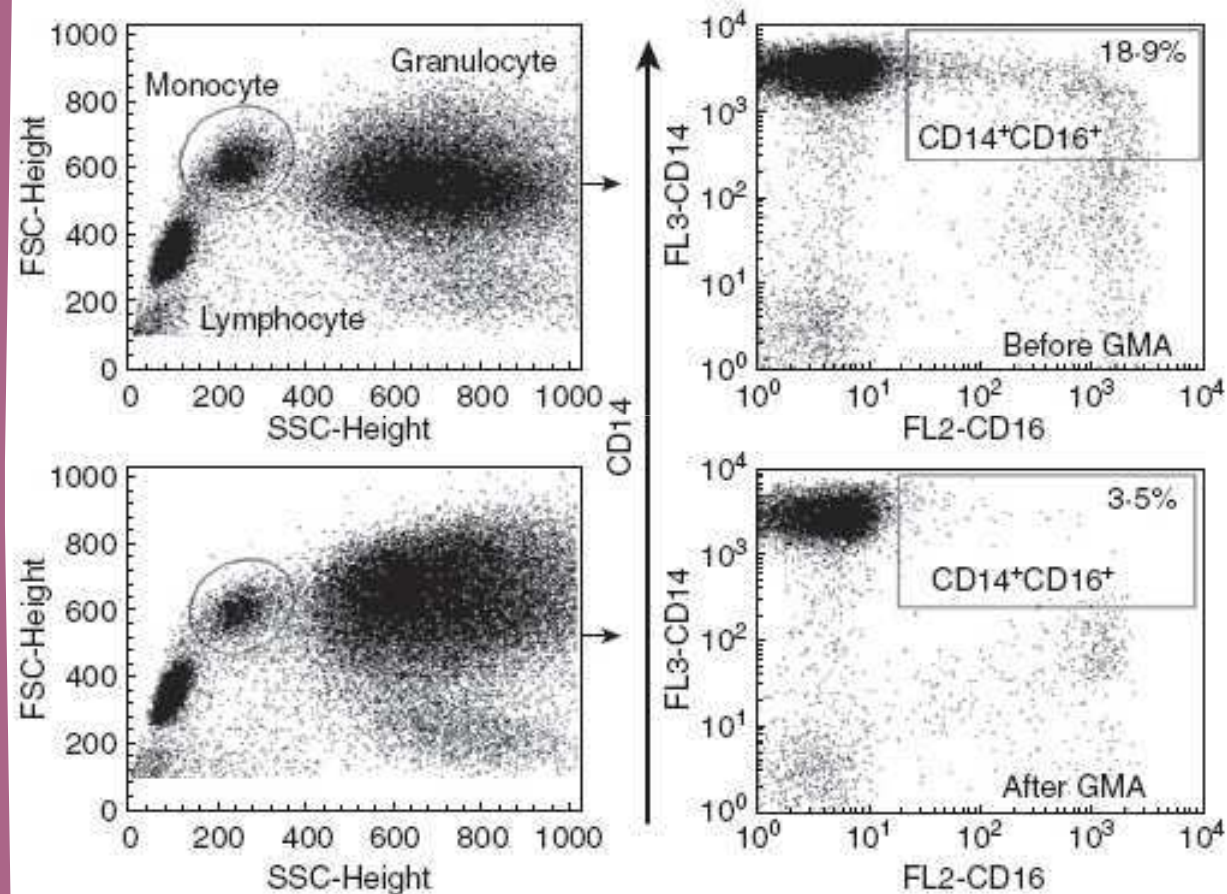
## GMA: meccanismo di azione 2

Neutrophils and Macrophages bind to the cellulose acetate beads thanks to the Fcγ complement receptor



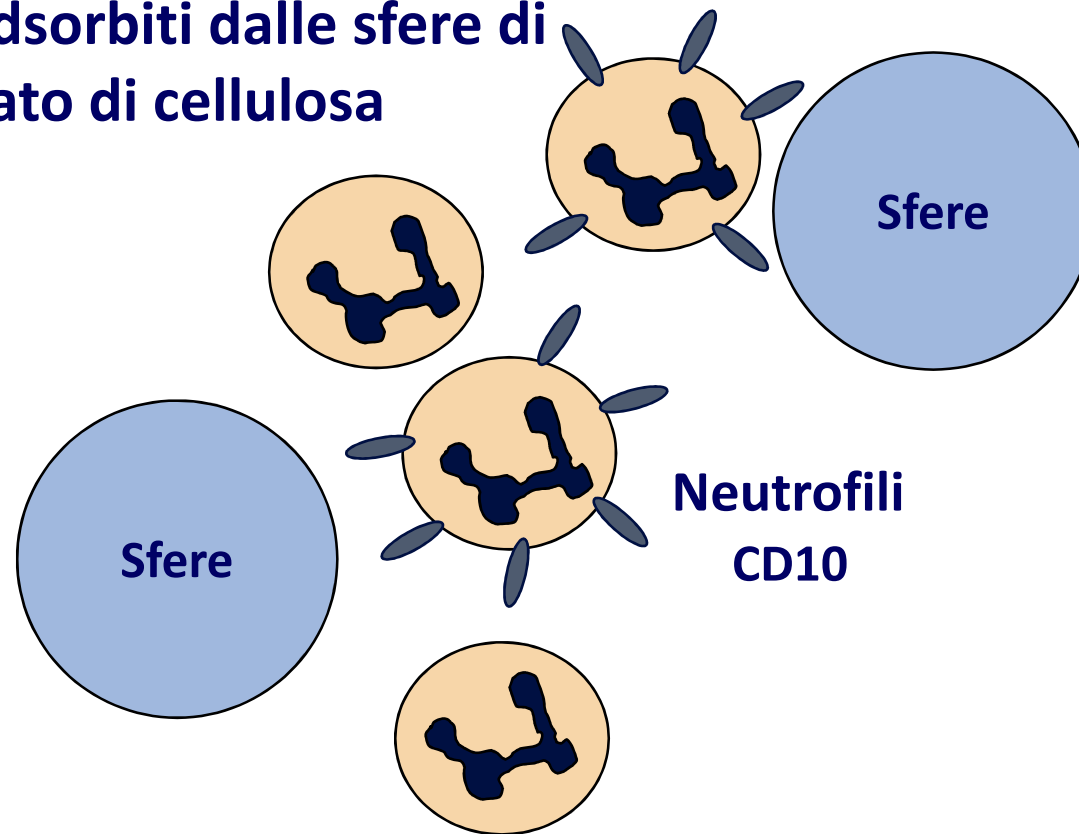
The mode of actions of the Adacolumn therapeutic  
leucocytapheresis in patients with inflammatory bowel disease:  
a concise review

citoflorimetria  
prima e dopo GMA :  
deplezione di  
monociti attivati  
CD14+ CD16+



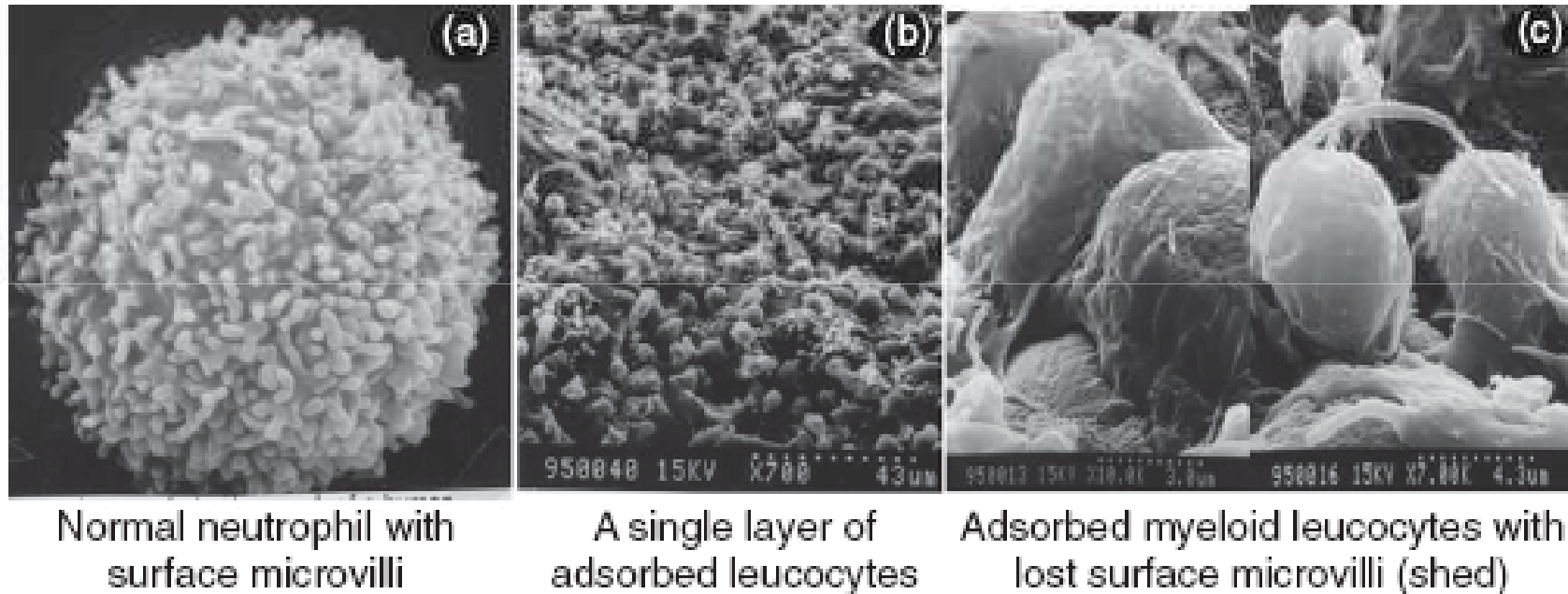
## GMA: meccanismo di azione 3

**I neutrofili attivati (CD10)  
vengono adsorbiti dalle sfere di  
acetato di cellulosa**



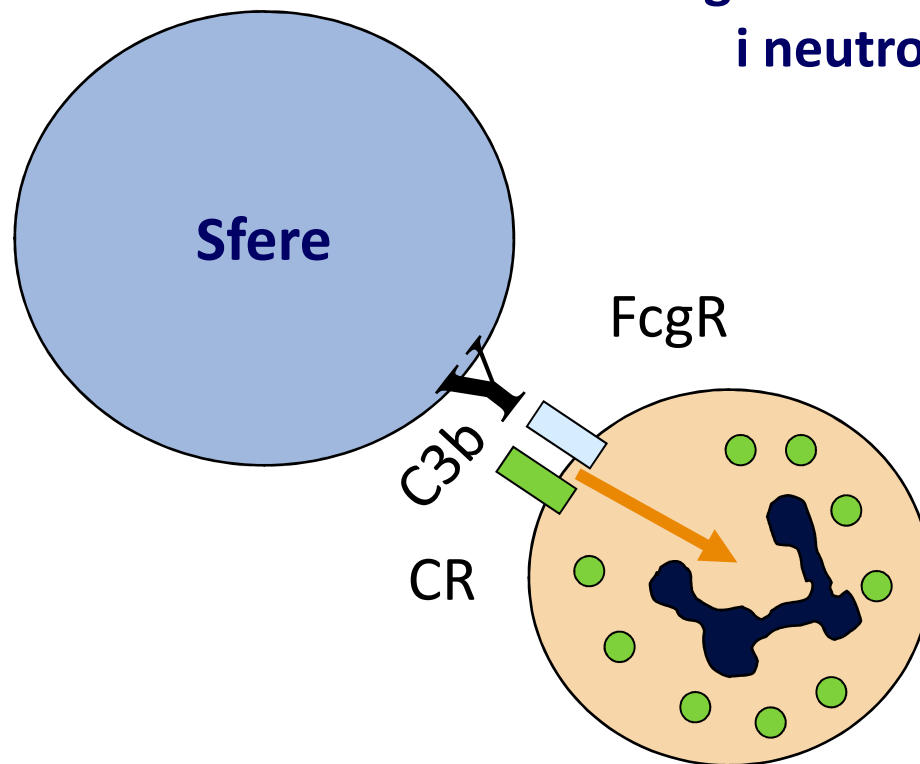


The mode of actions of the Adacolumn therapeutic  
leucocytapheresis in patients with inflammatory bowel disease:  
a concise review



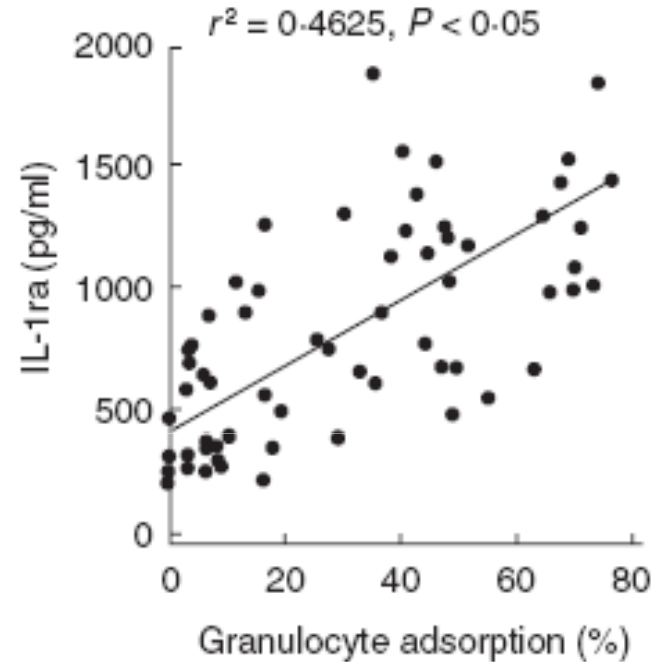
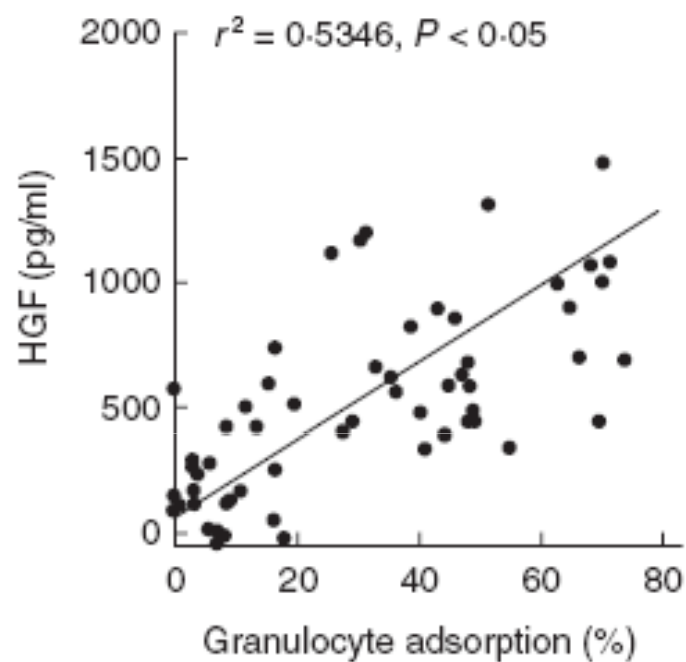
## GMA: meccanismo di azione 4

A seguito del legame con le sfere,  
i neutrofili rilasciano...



**Sostanze anti-infiammatorie**  
IL-1 recettore antagonista (IL-1ra)  
Hepatocyte growth factor (HGF)  
Recettori solubili del TNF

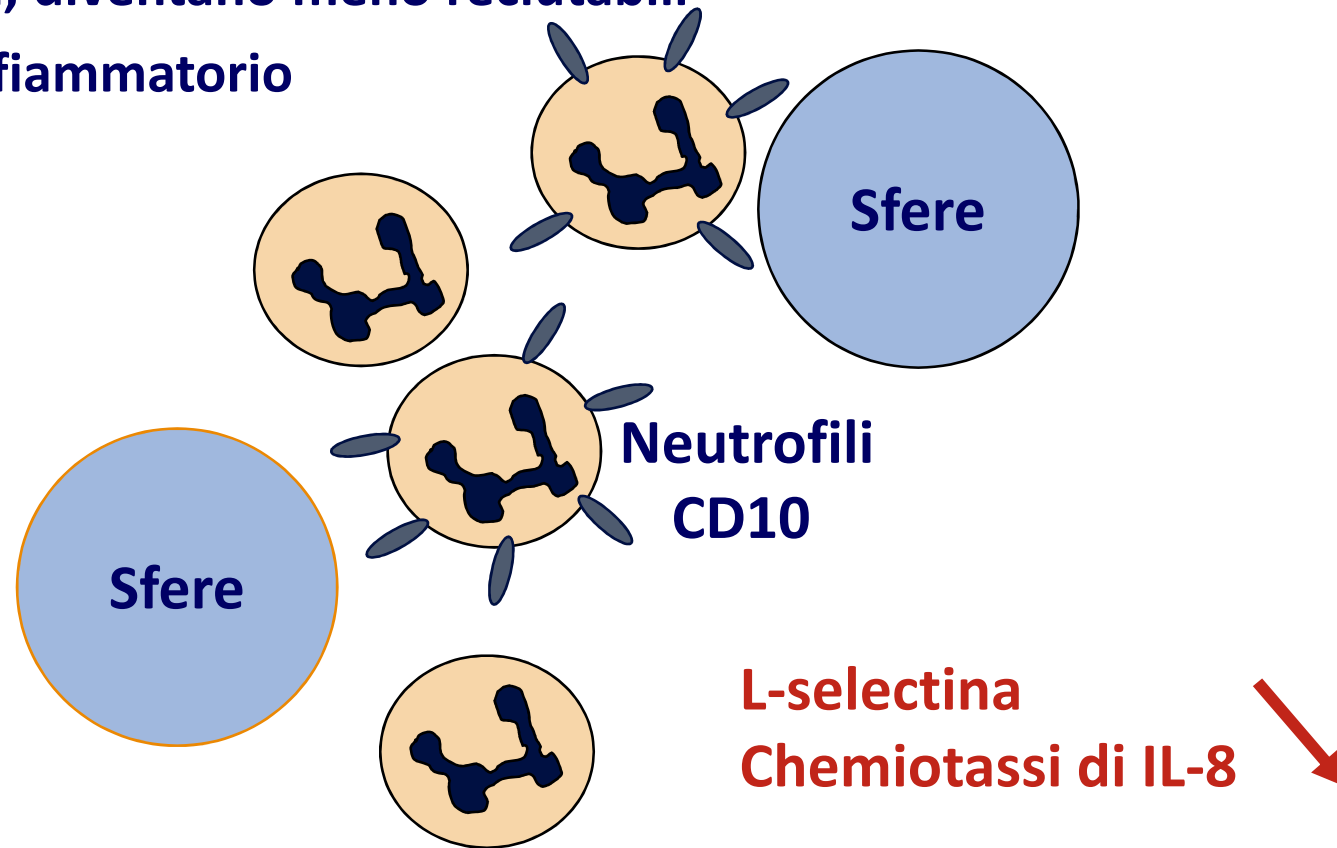
The mode of actions of the Adacolumn therapeutic leucocytapheresis in patients with inflammatory bowel disease: a concise review



Il rilascio di Hepatocyte Growth Factor e dell'antagonista IL-1 recettore è proporzionale all'adsorbimento dei granulociti sulle sfere di acetato di cellulosa

## GMA: meccanismo di azione 5

I neutrofili, passando attraverso  
la colonna, diventano meno reclutabili  
dal sito infiammatorio



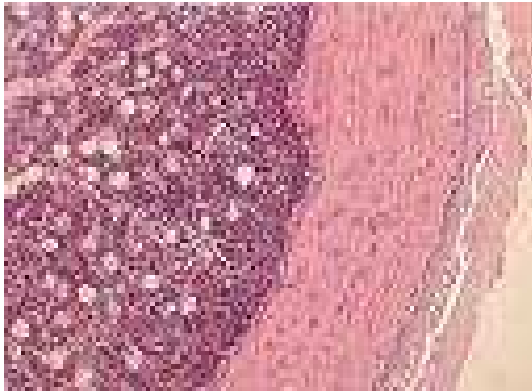
## GMA: meccanismo di azione 5



*Saniabadi A. Hanai H., Bjarnason I, Loeffberg R. J Clin Apher 2006; 20;171-84*

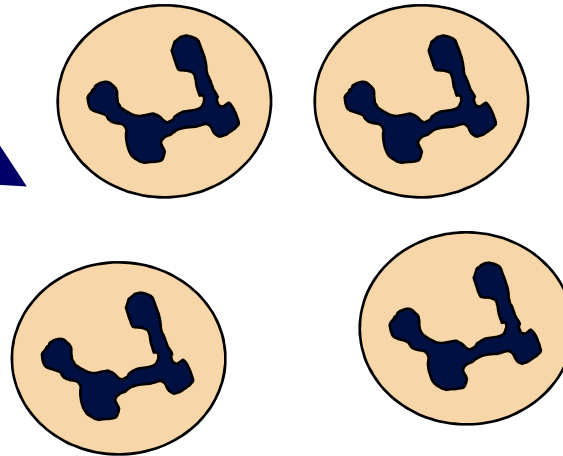
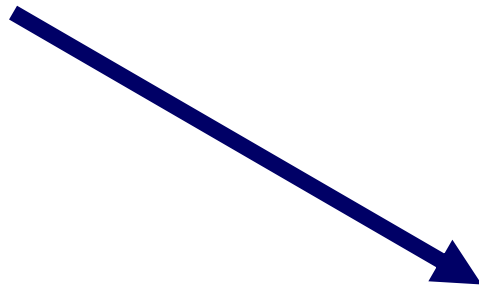


## GMA: meccanismo di azione 6



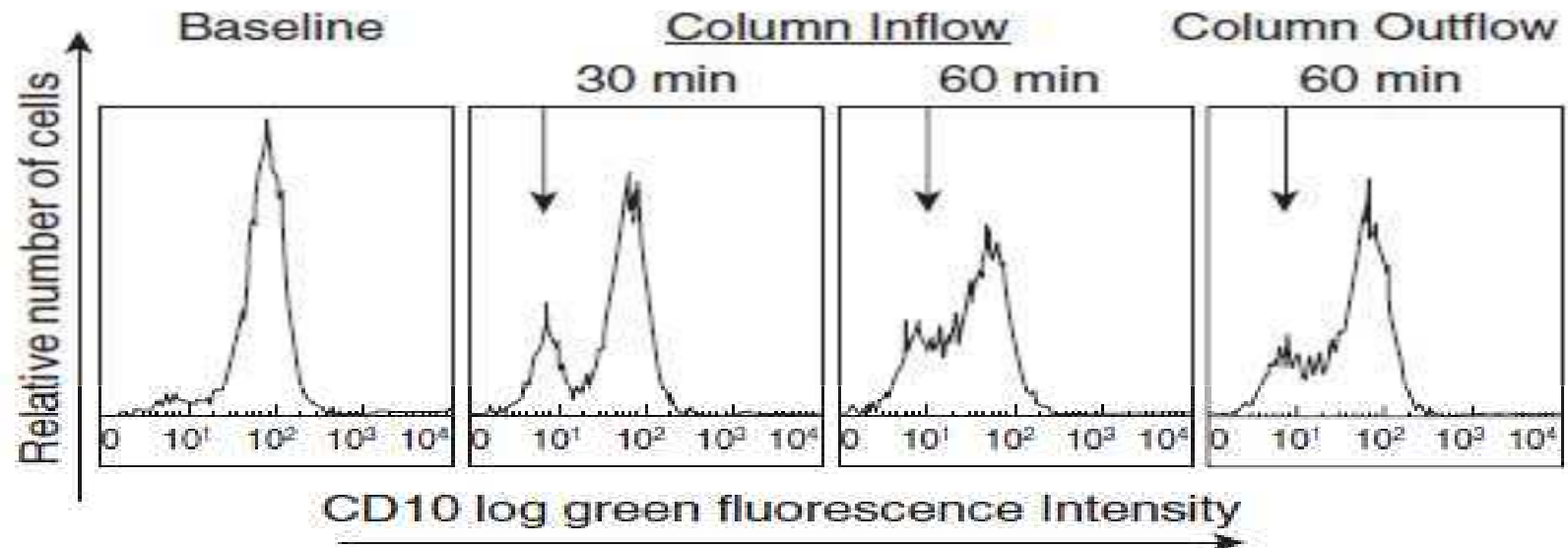
**adsorbimento e turnover inducono un rapido reclutamento di nuovi neutrofili dal midollo.**

**30-60 min**



**Neutrofili Naive  
Non attivati  
CD10 neg**

The mode of actions of the Adacolumn therapeutic leucocytapheresis in patients with inflammatory bowel disease: a concise review



Neutrofili al prelievo basale. Riduzione di neutrofili attivati e comparsa di neutrofili naive (CD10-), non infiammatori, durante GMA. Modifiche evidenti già dopo 30' di trattamento.

## GMA: linfociti T

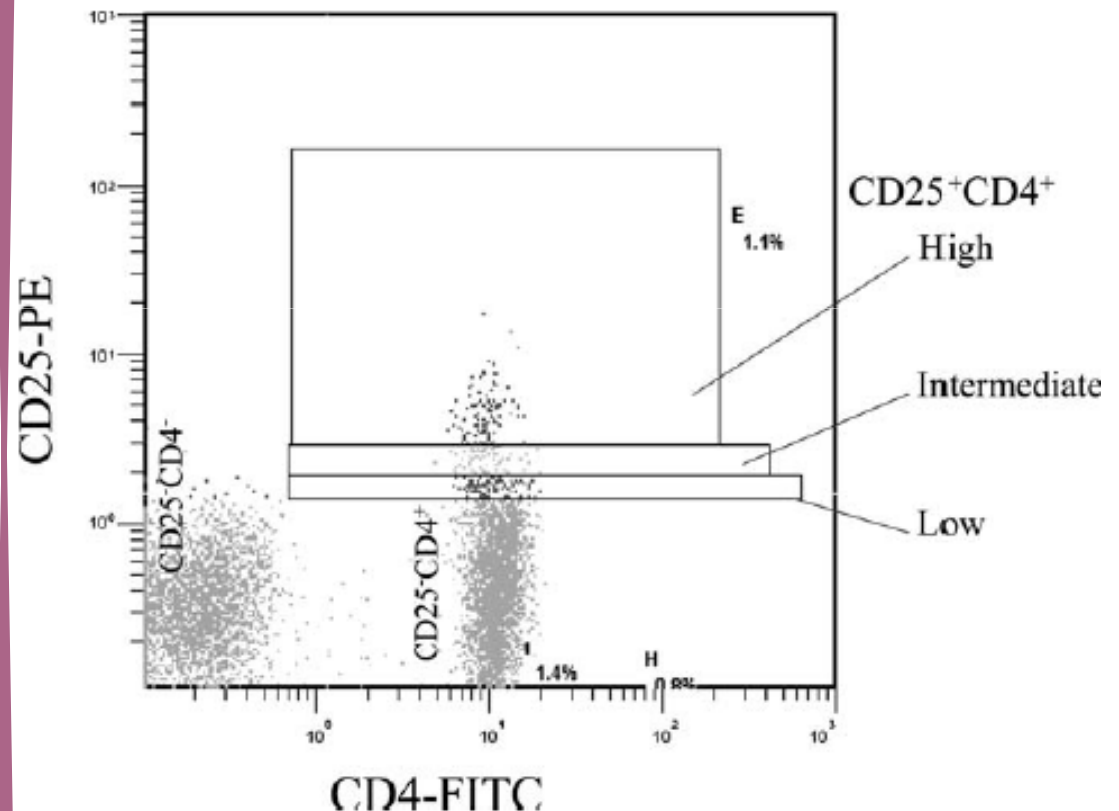


Numericamente ridotti nelle MICI - Aumentano dopo GMA -  
Non presentano FC $\gamma$  R, eccetto le sottopopolazioni NK e Dendriti-  
Adsorbiti: 2-6% - Modifiche condizionanti l'esito della terapia.

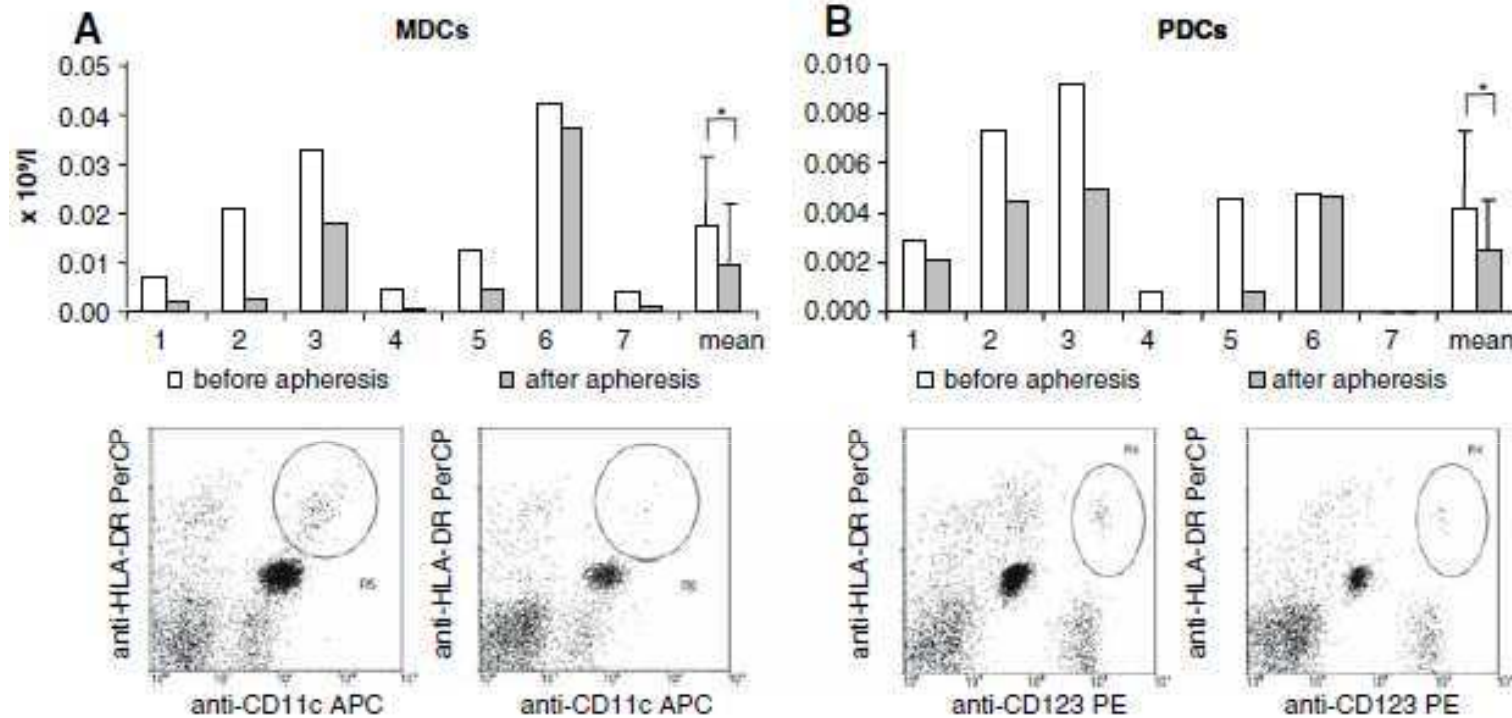
Demonstration of Low-Regulatory CD25<sup>High</sup>+CD4<sup>+</sup> and High-Pro-inflammatory CD28<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> T-Cell Subsets in Patients with Ulcerative Colitis: Modified by Selective Granulocyte and Monocyte Adsorption Apheresis

citoflorimetria

pre e post GMA: modifiche  
delle sottopopolazioni  
TCD4<sup>+</sup> immunoregatorie:  
CD25<sup>+</sup>/CD25<sup>++</sup>/CD25<sup>high</sup>+



## Reduction of Dendritic Cells by Granulocyte and Monocyte Adsorption Apheresis in Patients with Ulcerative Colitis



Riduzione delle cellule dendritiche mieloidi e plasmacitoidi prima e dopo di GMA su pazienti con CU. Chimica e citoflorimetria.



## Conclusioni: modifiche sistema immunitario

### ➤ **Modifiche del fenotipo cellulare dopo GMA**

Adsorbimento dei neutrofili attivati-modifica dei neutrofili circolanti-  
aumento dei neutrofili naive.

Adsorbimento di monociti CD14+ CD16+ (pro-infiammatori).

Incremento dei linfociti T regolatori CD4+CD25++,Treg Foxp3.

Adsorbimento delle cellule dendritiche.

### ➤ **Modifiche delle citochine pro/anti-infiammatorie**

Ridotta produzione di IL/citochine pro-infiammatorie: TNF  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ,  
IL-6, IL-8.

Rilascio di mediatori anti-infiammatori dalle cellule adese alla  
colonna: IL-1r antagonista, HGF, recettori solubili del TNF.

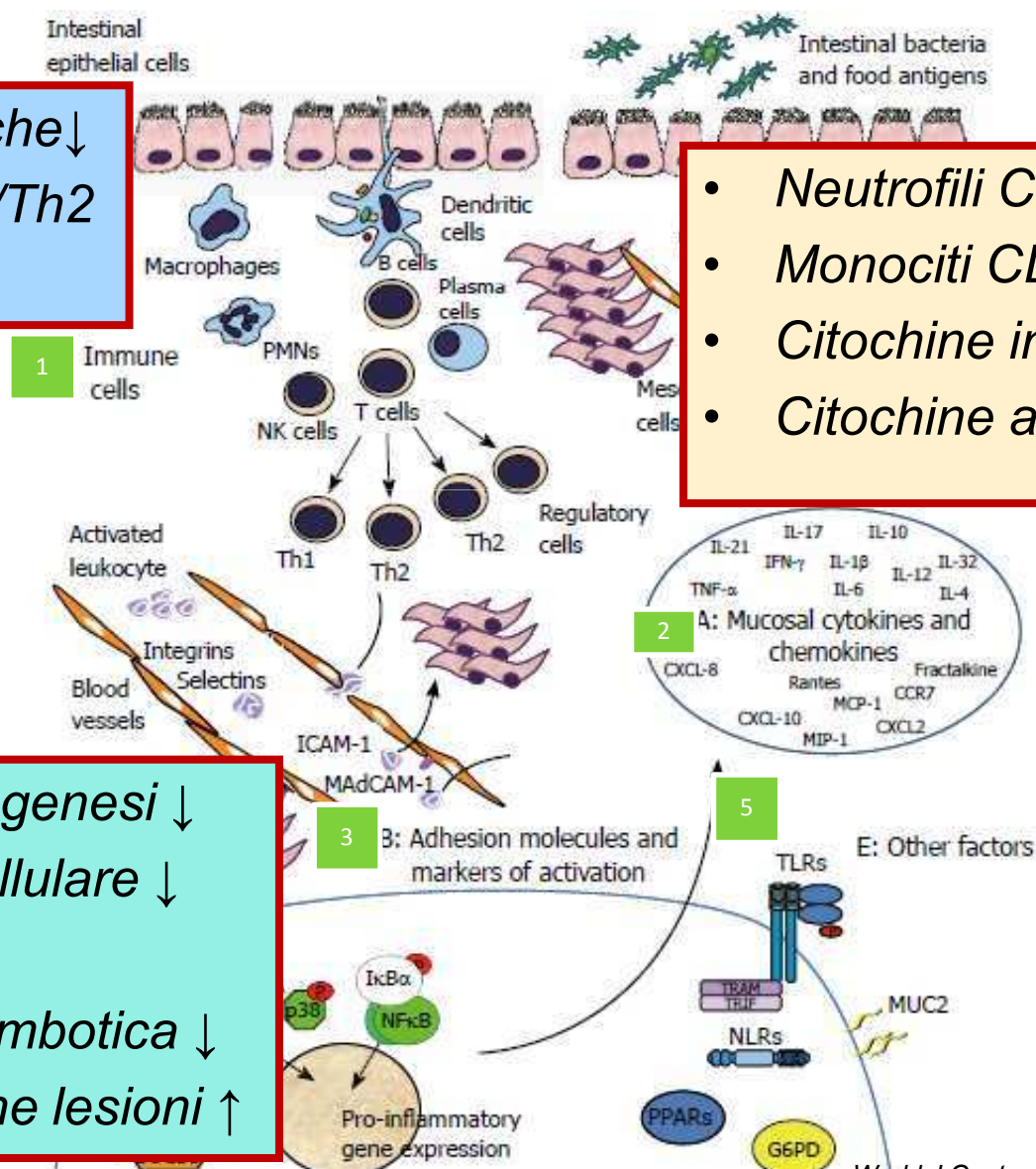
Rilascio di citochine anti-infiammatorie IL-10, TGF dalle cellule T reg

# Conclusioni: modifiche sistema immunitario

Cellule-dendritiche ↓  
Correzione Th1/Th2  
T regolatorie ↑

- Neutrofili CD10+ ↓
- Monociti CD14+CD16+ ↓
- Citochine infiammatorie ↓
- Citochine anti-infiammatorie ↑

- Neo-angiogenesi ↓
- Traffico cellulare ↓
- Edema ↓
- Diatesi trombotica ↓
- Riparazione lesioni ↑





CI SIAMO AVVICINATI A QUESTA INNOVAZIONE  
CON SCETTICISMO

SUCCESSIVAMENTE NE ABBIAMO  
APPREZZATO LE EVOLUZIONI

ADESSO COMINCIAMO A CONOSCERLA  
E SCOPRIRE I RISVOLTI TECNICI

**GRAZIE PER  
L'ATTENZIONE**