



GRANULOMONOCITOAFERESI e MALATTIE INFIAMMATORIE dell'INTESTINO



Dr ALESSANDRO MAZZONI
U. O. IMMUNOEMATOLOGIA - AOUP - PISA



OBIETTIVI della TERAPIA:

- Superamento della fase acuta
- Mantenimento della remissione
- Prevenzione e cura delle complicanze

- Stage EF et al.: *Journal of Crohn's and Colitis* 2008.

- Dignass A et al.: *Journal of Crohn's and Colitis* 2010.

TERAPIA

- **Conservativa:** 
 - Farmacologica
 - Nutrizionale
 - Di supporto
- **Chirurgica in caso di:**
 - Complicanze a rischio di vita (*megacolon tossico, perforazione intestinale*),
 - Complicanze che limitano la qualità di vita (*fistole, stenosi*),
 - Malattia con severa attività e non rispondente alla terapia conservativa.

- Stage EF et al: *Journal of Crohn's and Colitis* 2008.

- Dignass A et al: *Journal of Crohn's and Colitis* 2010.

STEROIDI

- di scelta negli attacchi acuti.
- posologia: prednisolone 1mg/kg/die
metilprednisolone 0.8 mg/kg/die
- possibilità di uso topico
- **corticoresistenza** (8-20%) se persiste attività dopo 7 settimane
- **corticodipendenza** (12-15%) se presenta una ripresa durante la riduzione degli steroidi
- non è consigliabile come terapia di mantenimento

Steroidi di diversa formulazione

(budesonide, beclometasone dipropionato)

➤ Per ridurre gli effetti sistemici degli steroidi.

- Steroidi a ridotto assorbimento sistemico.
- Non influiscono sull'asse cortico-surrealiano.

◆ Budesonide

formulazione a rilascio prevalentemente nell'ileo

posologia: 9 mg in unica somministrazione

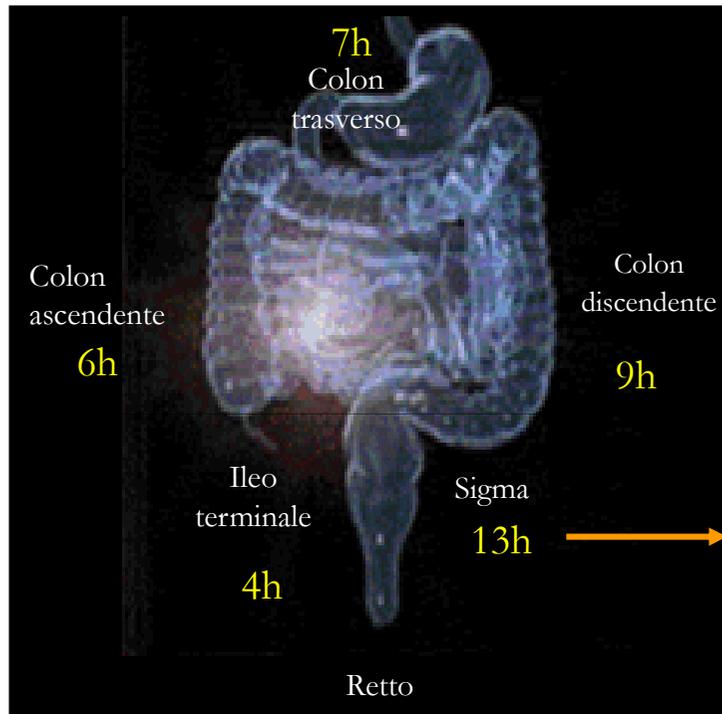
- utile nella fase attiva della m. di Crohn:
- da valutare l'uso per via rettale.
- risultati meno promettenti come terapia di mantenimento

◆ Beclometasone dipropionato

formulazione a rilascio prevalentemente nel **colon**,

cp 5 mg; clisma da 3 mg.

5-ASA: sedi e tempi di rilascio



La presenza nel sigma-retto inizia dopo 13 ore e si mantiene fino a 24 ore

- ❖ **5-ASA** (2.4 gr/die), formulazioni:
- ✓ PH dipendenti:
Ph 7(colon) o Ph 6 (ileodistale)
- ✓ Il rilascio è favorito dalla flora batterica del colon (olsalazina) (balsazide)
- ✓ Multi Matrix System che consente il rilascio di 5-ASA anche nella parte finale del colon.

IMMUNOSOPPRESSORI (1)

- **Azatioprina** (2 mg/kg/di),
- **6- Mercaptopurine** (1.5 mg/Kg/die)
- **Metotrexate** (25 mg *im* alla sett.)
 - Come terapia di mantenimento nei pazienti non responders
 - Permettono la riduzione o sospensione degli steroidi.
 - Recidiva del 40% dei casi alla sospensione.
 - Lunga durata della terapia
 - Effetti collaterali nel 9% dei casi

-Teml A et al. *ClinPharmacokinet.* 2007.

-Jharap. *Inflamm Bowel Dis.* 2010.

IMMUNOSOPPRESSORI (2)

◆ Ciclosporina

- RCU fulminanti non responders: risultati terapeutici nell'82% dei casi.
- M. di Crohn con fistole: chiusura nel 78%.
 - posologia e.v.: 5 mg/Kg/die
 - risultati discreti a breve termine, ma possibili le recidive alla sospensione.
- *Non convincenti dati nel mantenimento,*

- Allenspach K et al: J Vet Intern Med. 2006

- Maser EA, et al: 2008

GRANULOCITOAFERESI nelle IBD

Razionale (1)

- Le Malattie Infiammatorie Intestinali, Colite Ulcerosa e Malattia di Crohn, sono malattie croniche a **carattere autoimmune**.
- I **neutrofili** e **monociti** sono le fonti principali di citochine pro-infiammatorie. In fase di malattia attiva, i neutrofili e monociti circolanti hanno valori al di sopra della media e si presentano in forma attivata.
- Citochine pro-infiammatorie, come $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23, hanno un ruolo primario nello scatenare e perpetuare la malattia.
- I **linfociti** circolanti sono al di sotto dei valori medi.

GRANULOCITOAFERESI nelle IBD

Razionale (2)

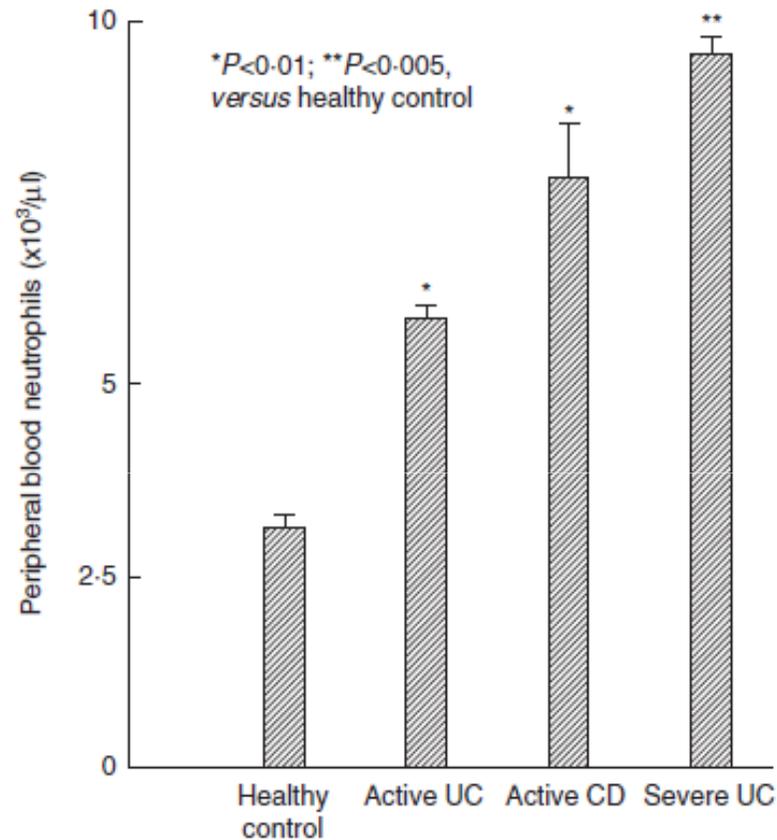


Fig. 1. Peripheral blood neutrophil (granulocyte) counts in healthy controls and patients with inflammatory bowel disease (IBD), showing elevated neutrophils in IBD. *P*-values by paired *t*-test. Data sources are described in the text, refs [2,26,27].

GRANULOCITOAFERESI nelle IBD

Razionale (3)

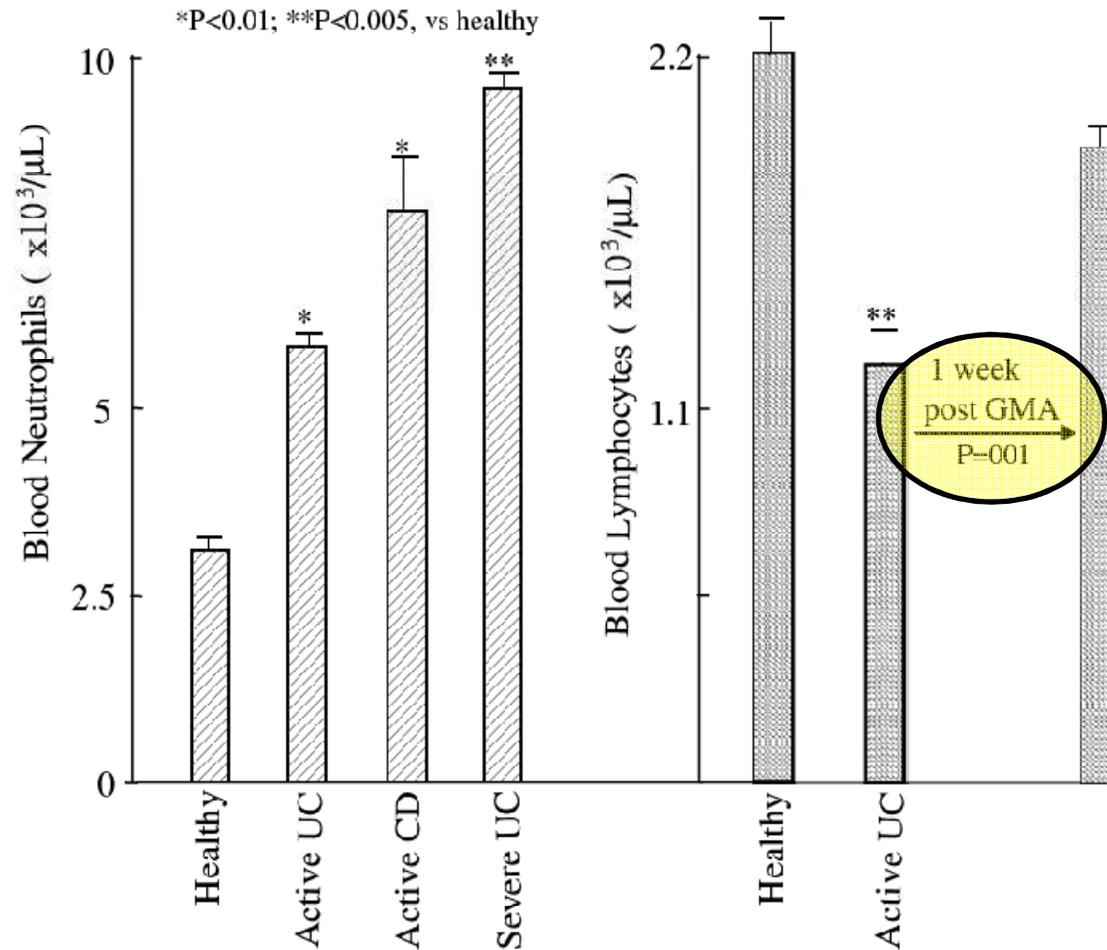


Fig. 1. Peripheral leukocytes in IBD. Data show elevated neutrophils in IBD in the presence of compromised lymphocytes. On the right hand side (for viewer), it is shown that GMA is followed by an increase in lymphocyte count. However, data at 1-week post-GMA are presented, but the increase may continue for weeks (Ref. [14]) which was not followed here (Refs. [16,17]). Mean \pm SD values are presented; *P* values by the *t*-test or Mann-Whitney *U*-test for *n* = 22–53.

GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Metodica

Adasystem:

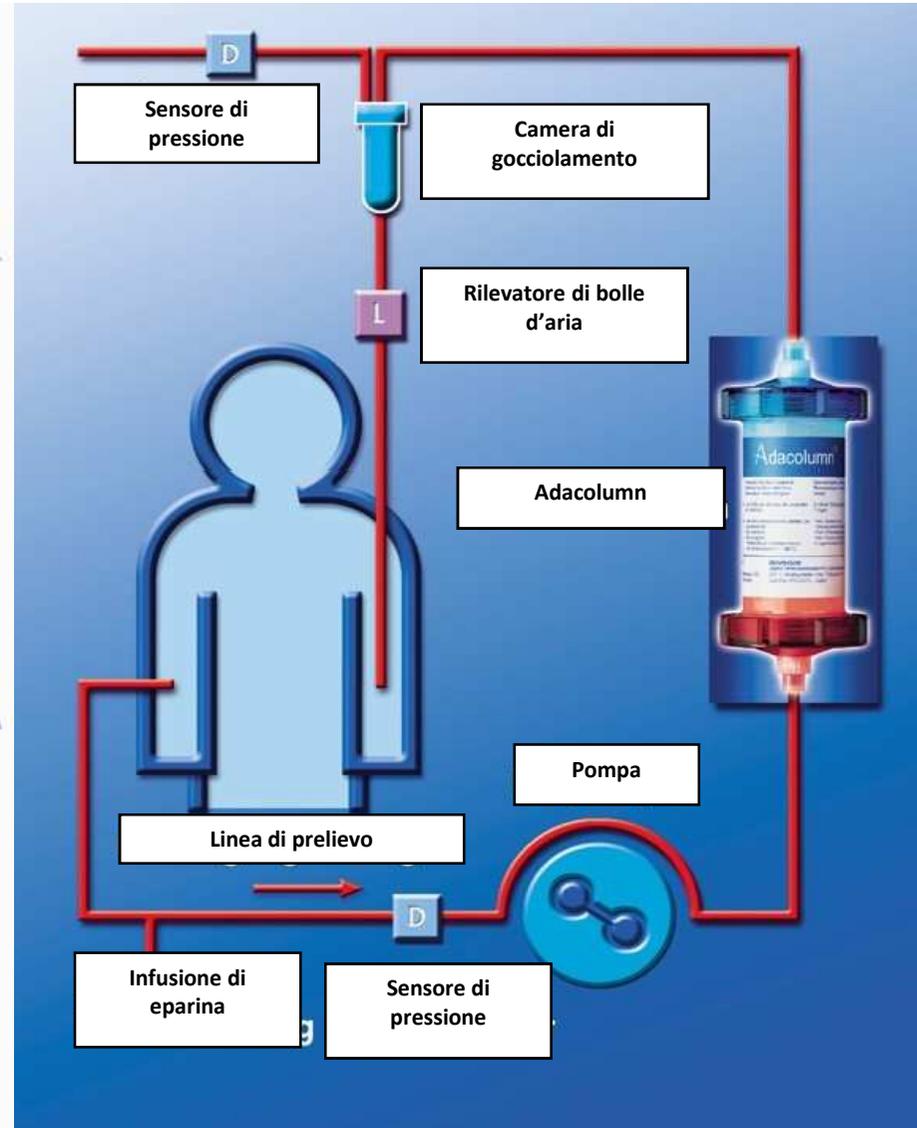


Adacolumn: The adsorption column Adacolumn selectively binds granulocytes and monocytes.

Adamonitor MM6-N: The Adamonitor contains a blood pump and a monitor with which the apheresis is monitored and can be controlled.

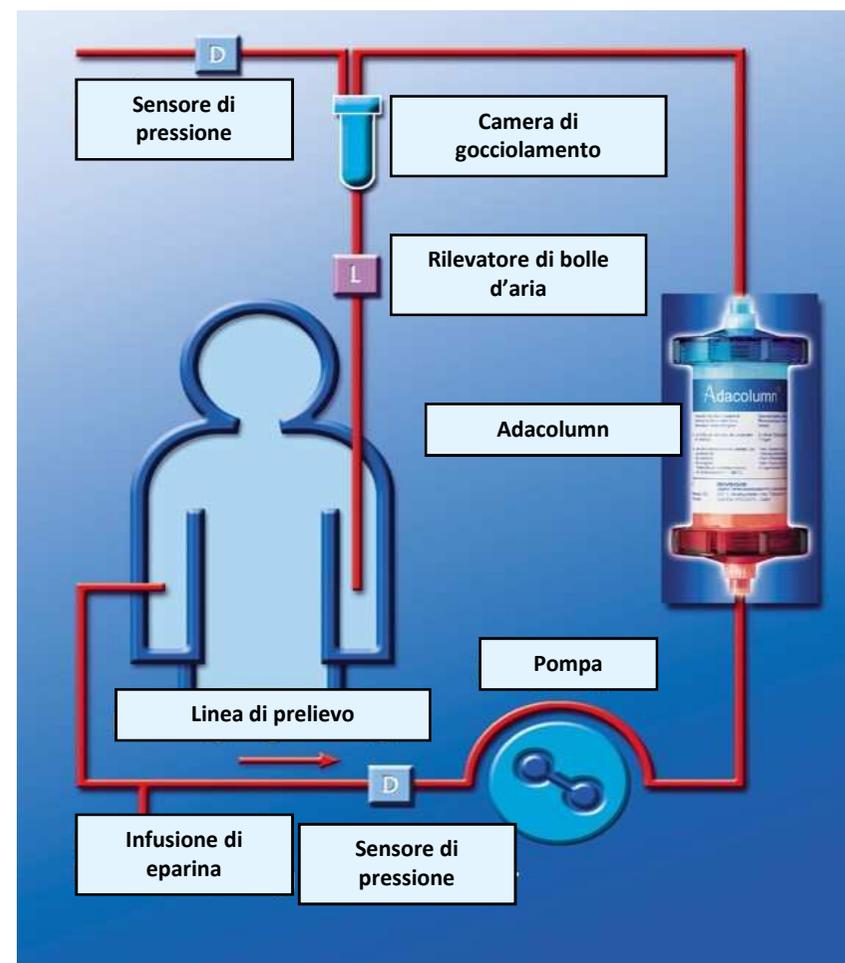
Adacircuit: The tube system developed specifically for the Adasystem used for extra-corporeal circulation.

Adastand: All components are practically and visibly arranged on the Adastand.

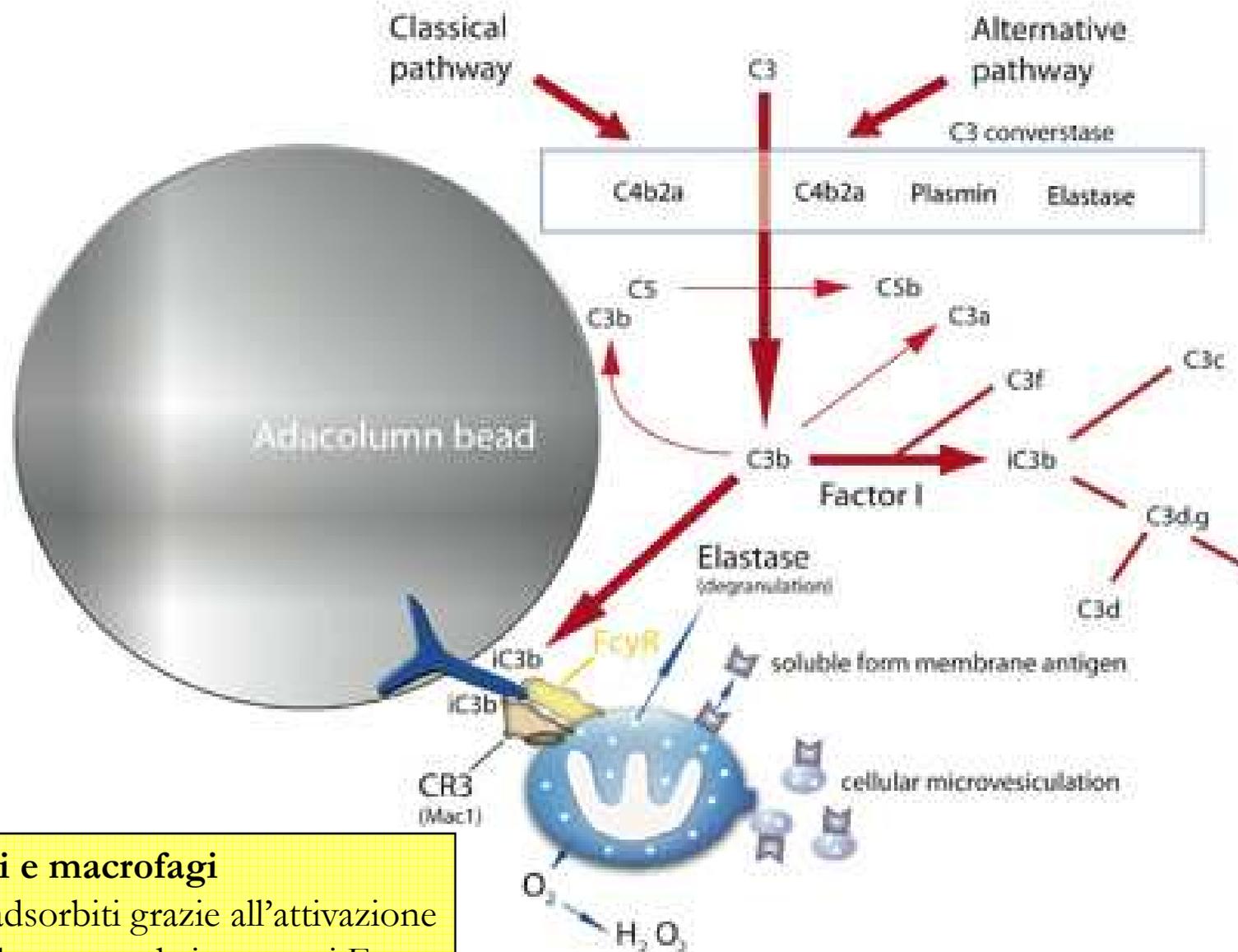


GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Procedura

- Aferesi veno-venosa
- Durata: 60 min.
- Flusso: 30 mL/min
- Volume totale di sangue processato: 1.800 mL
- Volume extracorporeo: 210 mL
- Anticoagulante:
Eparina sodica 1500/2500 UI/h
- 1 a settimana x 5 settimane



GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (1)

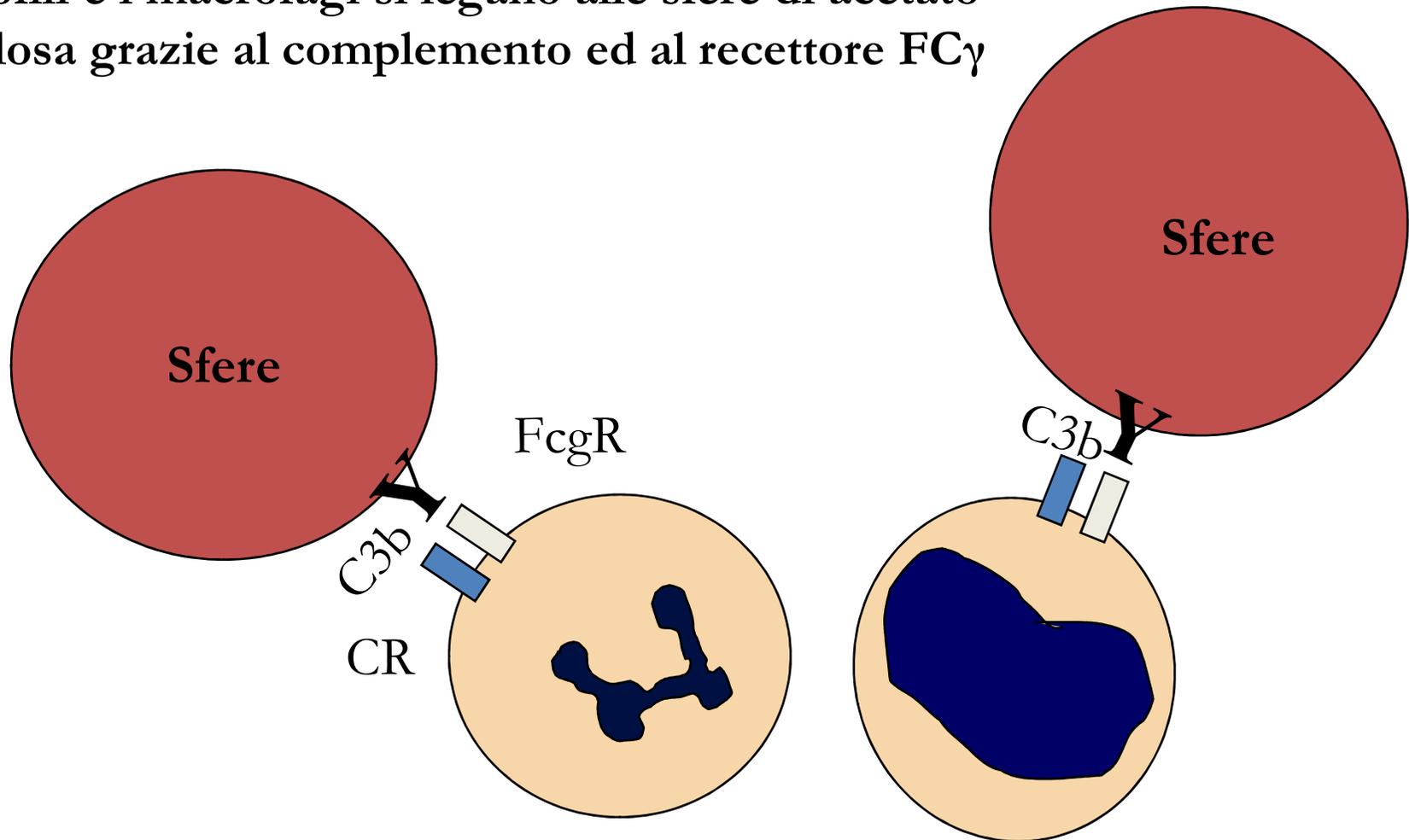


Neutrofili e macrofagi
vengono adsorbiti grazie all'attivazione
del Complemento ed ai recettori Fc

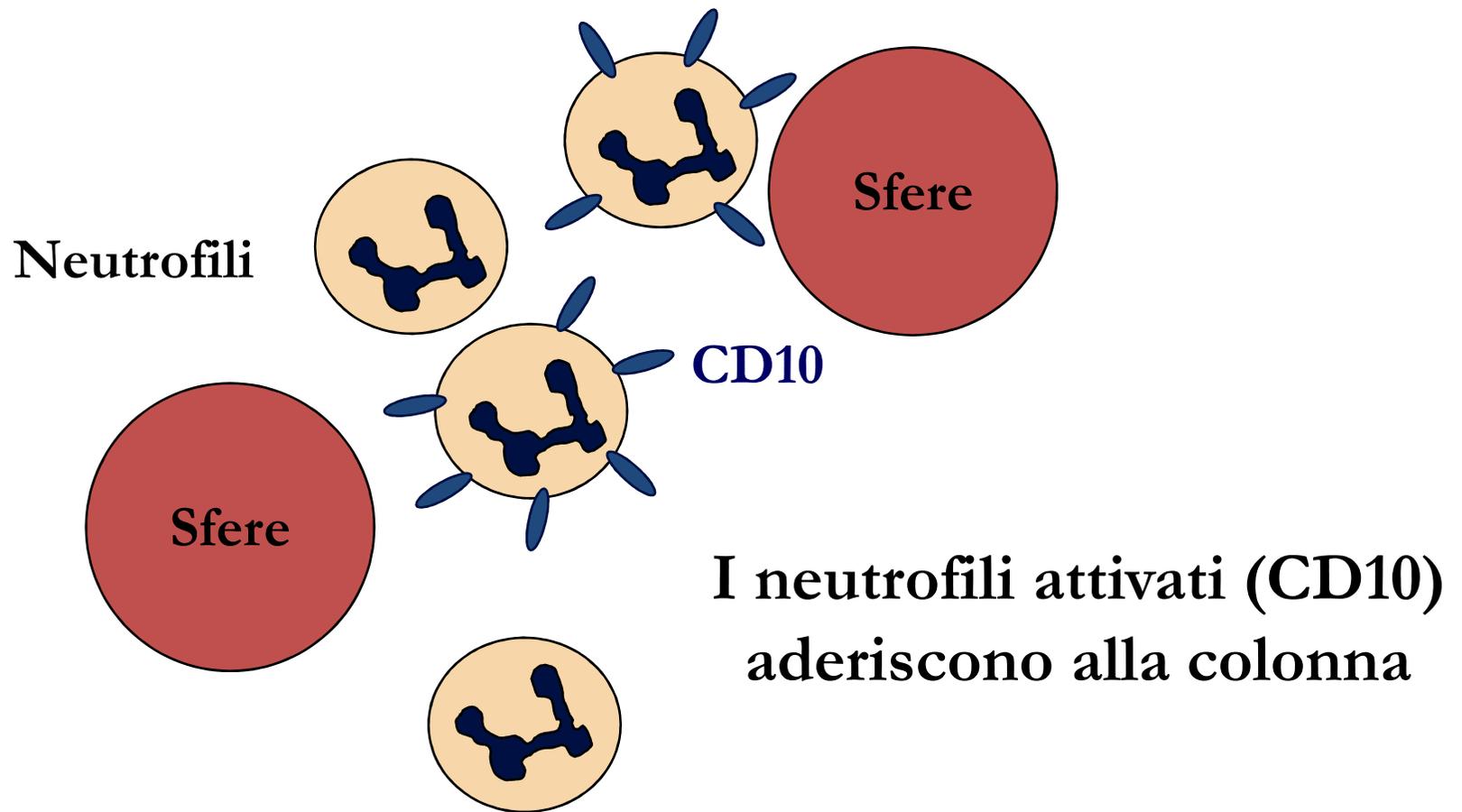
GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®:

Meccanismo d'azione (2)

I neutrofili e i macrofagi si legano alle sfere di acetato di cellulosa grazie al complemento ed al recettore FC γ

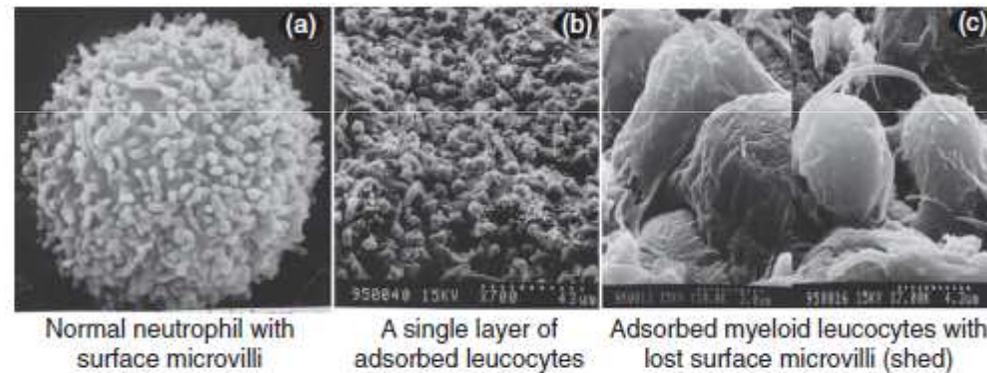


GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (3)

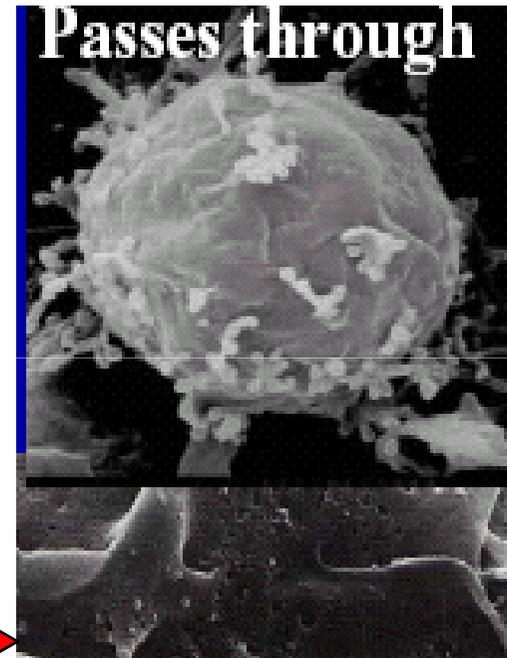
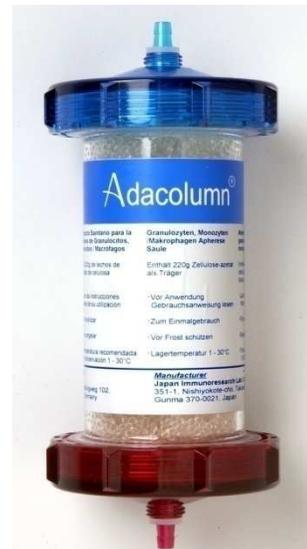
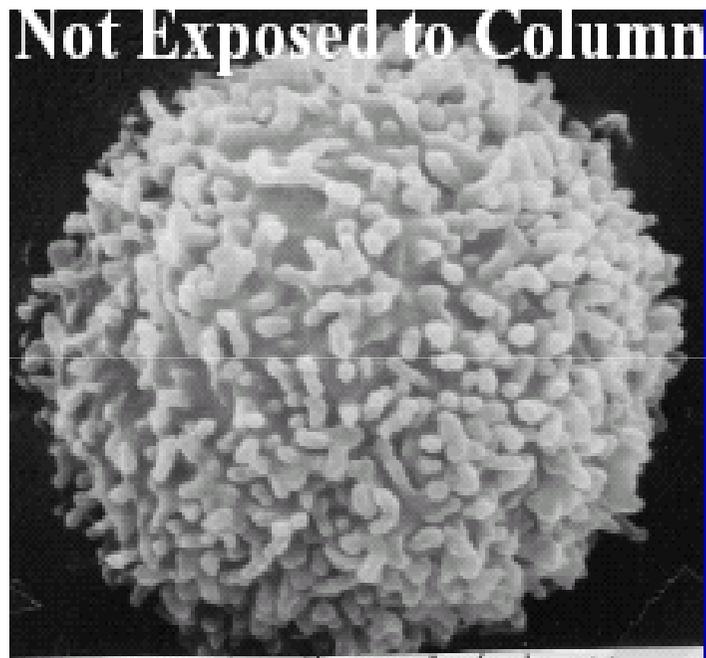


GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (4)

Fig. 2. Selective adsorption of myeloid leucocytes to the granulocyte/monocyte adsorption (GMA) carriers. The high magnification view in (c) reveals that the adsorbed leucocytes are primarily neutrophils and monocytes/macrophages (myeloid lineage leucocytes). For further details see ref [24].



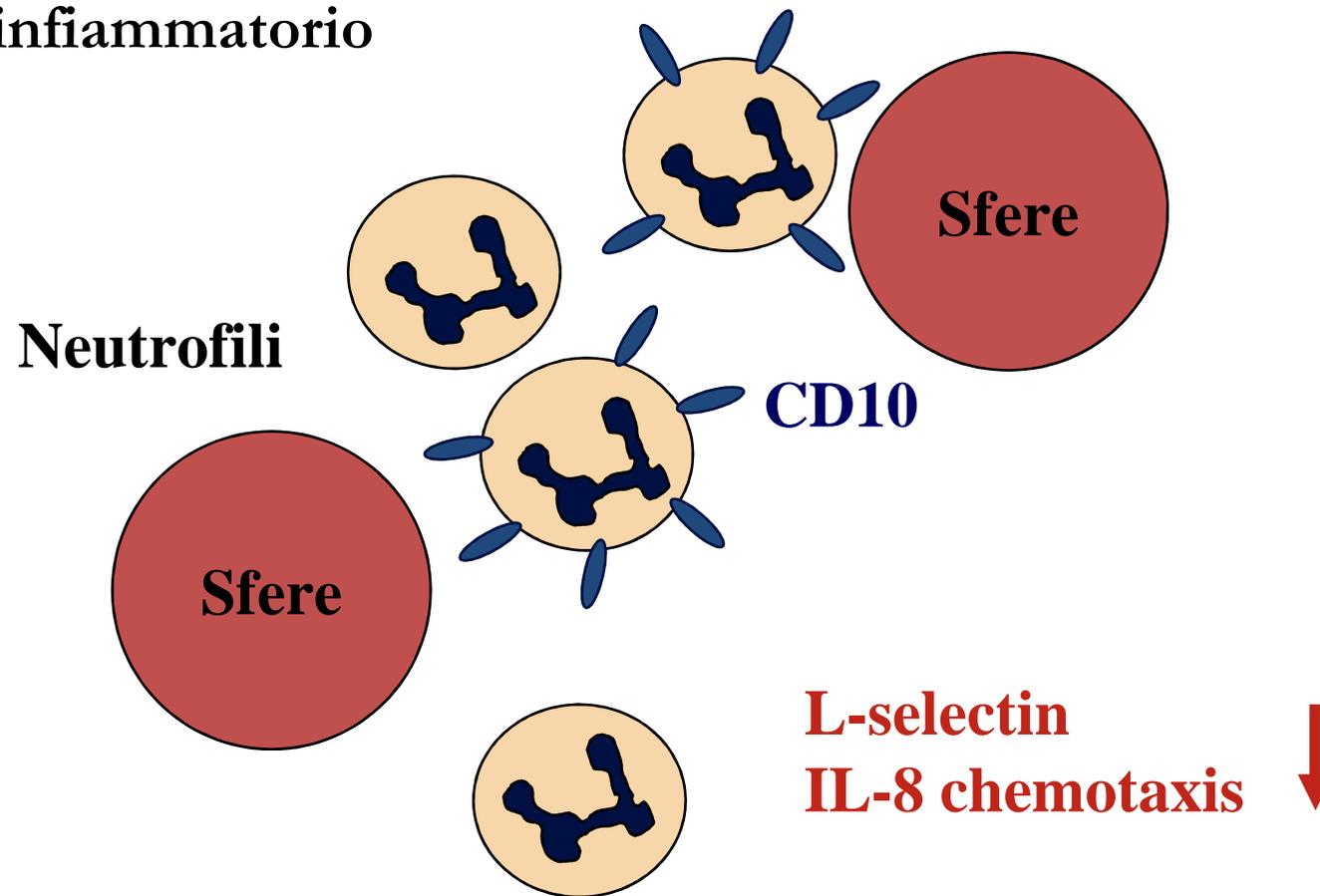
GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (8)



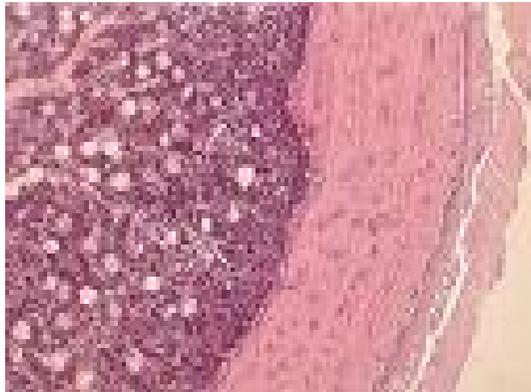
Saniabadi A. Hanai H., Bjarnason I, Loeffberg R. J Clin Apher 2006; 20;171-84

GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (5)

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

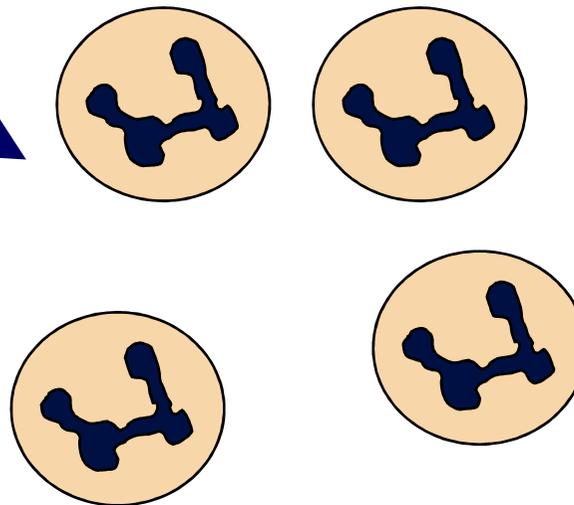
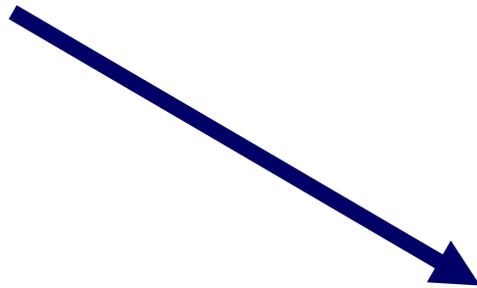


GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (6)



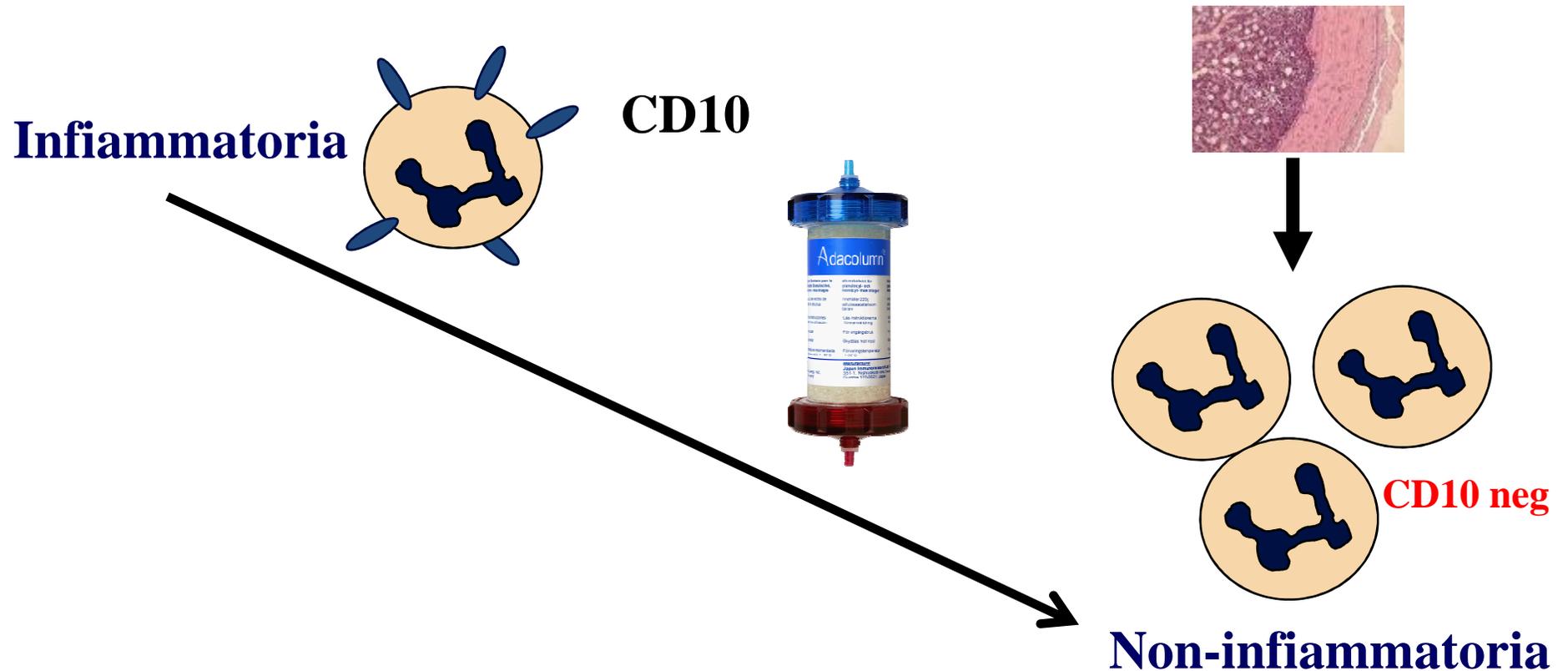
... quindi si induce un rapido reclutamento di nuovi neutrofili dal midollo osseo

30-60 min



*Neutrofili Naive
Non attivati
CD10 neg*

GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (7)



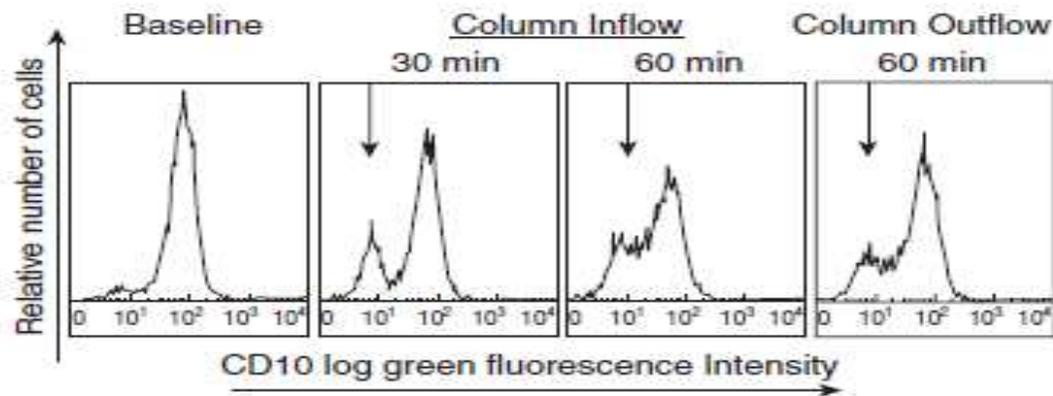


Fig. 5. Fall in neutrophils and emergence of CD10-negative neutrophils (naive, immature) during Adacolumn granulocyte/monocyte adsorption (GMA). Source: Kashiwagi *et al.* Dig Dis Sci 2002;47:1334–41, ref. [32].

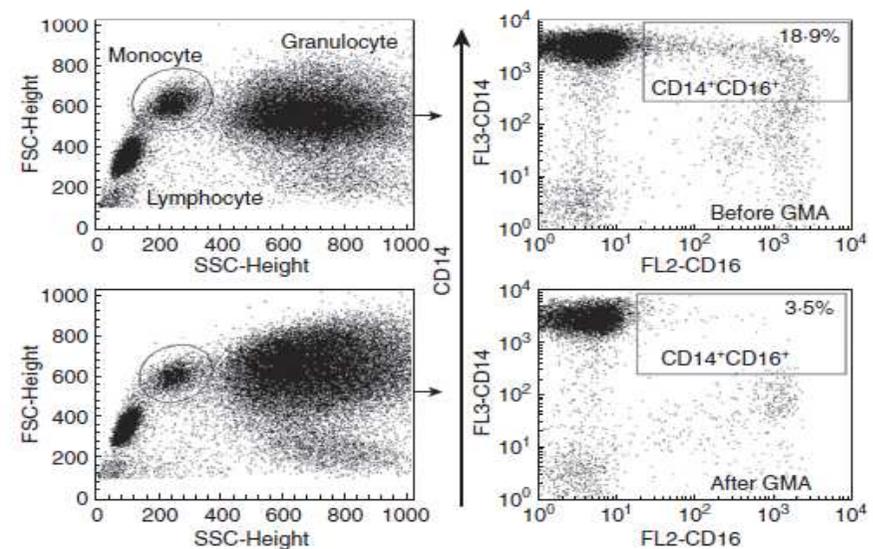
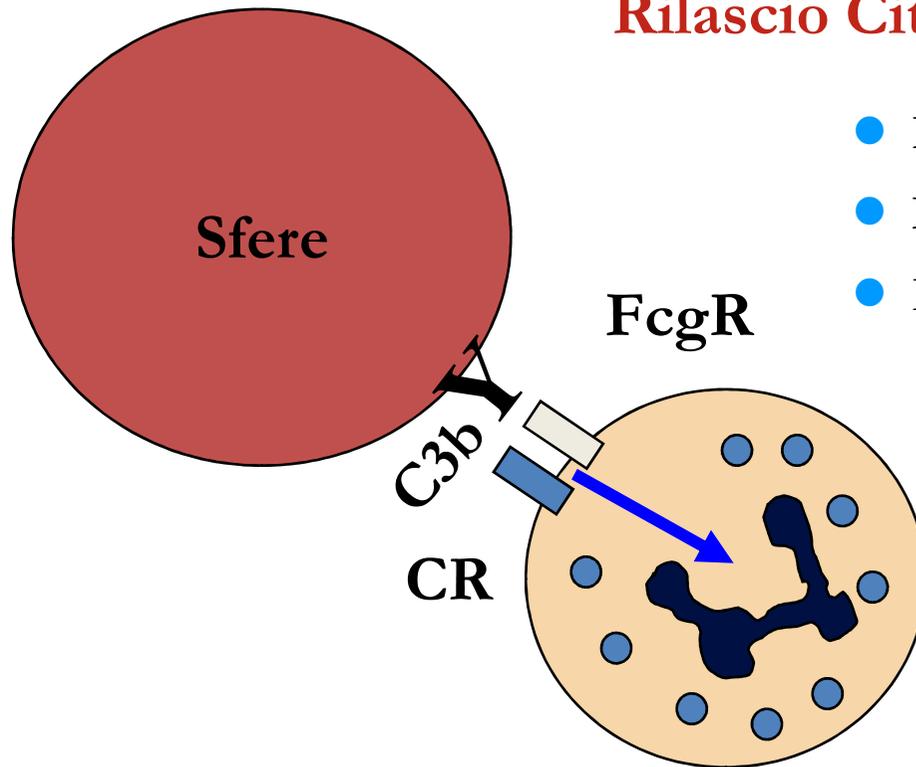


Fig. 4. Typical flow cytometry patterns showing depletion of proinflammatory CD14⁺CD16⁺DR⁺ monocytes in patients with inflammatory bowel disease (IBD) by the Adacolumn granulocyte/monocyte adsorption (GMA). Source: ref. [31].

GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®: Meccanismo d'azione (8)

Rilascio Citochine anti-infiammatorie



- IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)
- Hepatocyte Growth Factor (HGF)
- Recettori solubili del TNF

The mode of action of GMA

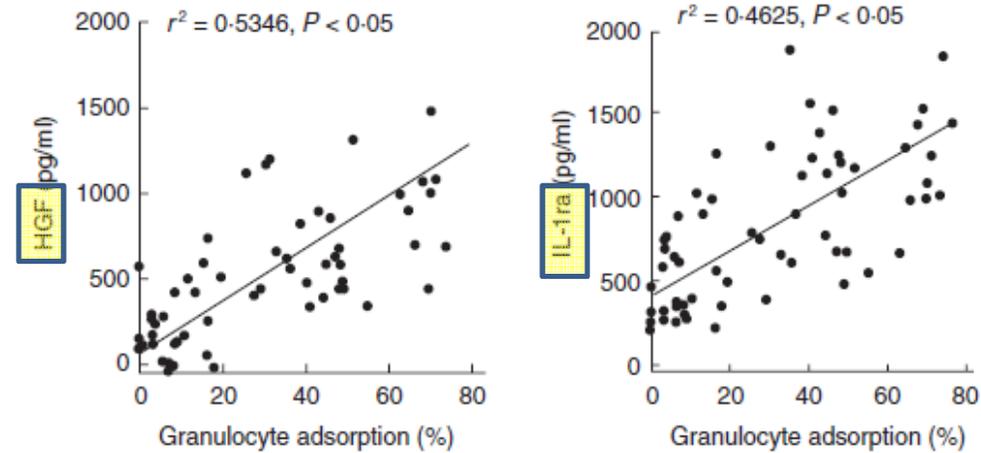


Fig. 6. Adsorption-dependent release of interleukin (IL)-1ra and hepatocyte growth factor (HGF) from myeloid leucocytes. Source: ref. [33].

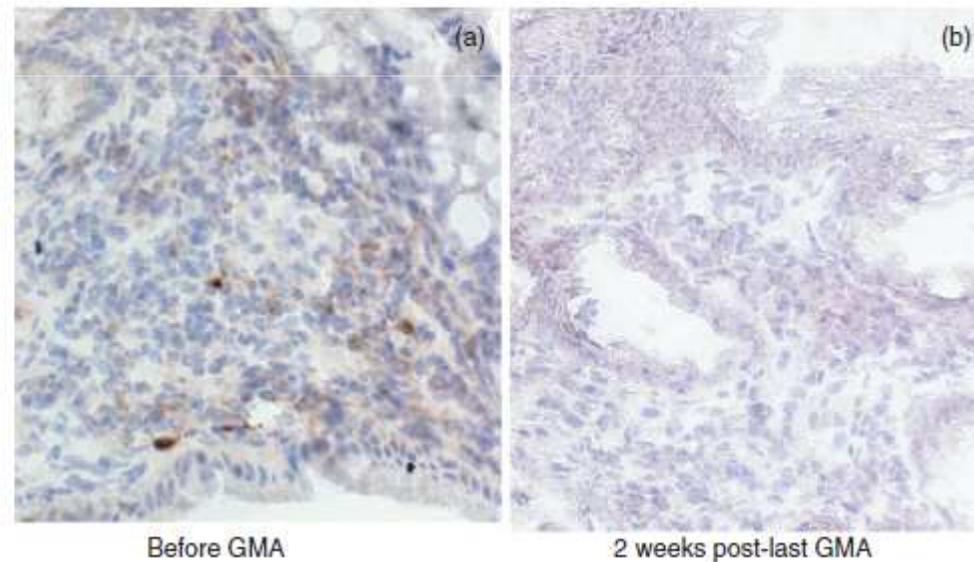


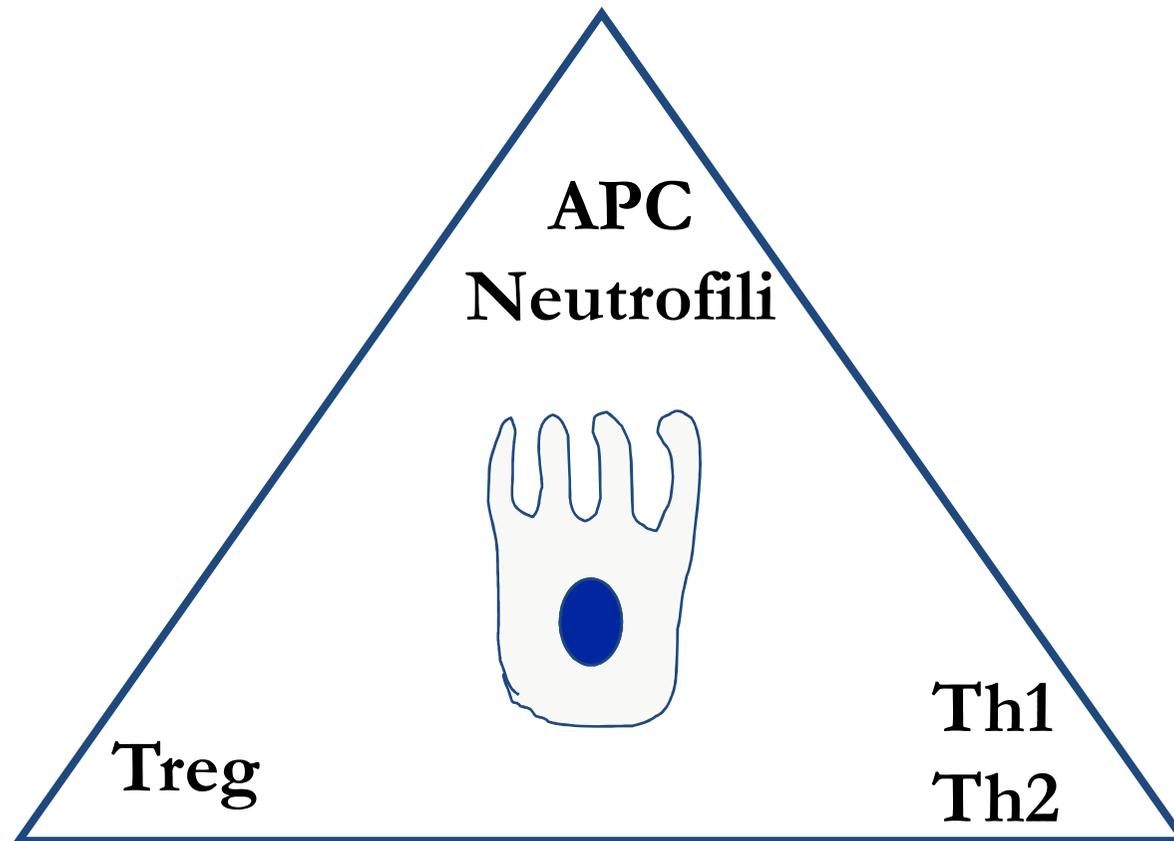
Fig. 7. Typical immunohistochemistry staining for tumour necrosis factor (TNF)- α in colonic biopsies of a patient with inflammatory bowel disease (IBD) before (a) granulocyte/monocyte adsorption (GMA) and (b) 2 weeks post-last GMA session. For additional information, see text and the report by Muratov *et al.*, ref [46].

GRANULOCITOAFERESI con Adacolumn®:

Sintesi Meccanismo d'azione

- Adsorbimento di cellule attivate del sistema immunitario
(granulociti e monociti/macrofagi)
- Turn over di neutrofilii
 - Riduzione di L-selectina
 - Meno responsivi a chemiotassi di IL-8
- Rilascio di mediatori anti-infiammatori dalle cellule adese alle sfere di Adacolumn
 - IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)
 - hepatocyte growth factor (HGF)
 - Recettori solubili del TNF
- Riduzione di produzione di citochine proinfiammatorie
 - TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8

Adacolumn ripristina l'omeostasi



Selezione del Paziente (1)

- In ambito pediatrico
- Corticodipendenti o corticoresistenti
- Nei soggetti che non tollerano corticosteroidi, immunosoppressori, biologici o per i quali ne è controindicato l'uso
- Nei casi che non rispondono alla terapia tradizionale come alternativa in attesa di intervento chirurgico

Selezione del Paziente (2)

Controindicazioni

- Granulociti $< 2000/\mu\text{l}$

Avvertenze

- Pazienti con grave insufficienza epatica o renale o con gravi malattie cardiovascolari
- Pazienti con ipersensibilità all'eparina
- Pazienti che assumono ACE inibitori si consiglia il monitoraggio durante l'aferesi della pressione sanguigna e della frequenza cardiaca
- Pazienti con conta di eritrociti $< 3.000.000/\text{mm}^3$ o $> 6.000.000/\text{mm}^3$ e con fibrinogenemia $> 700 \text{ mg/dL}$

Effetti Indesiderati

Gli effetti indesiderati sono osservati con una frequenza $< 5\%$ e sono:

- Ipotensione, palpitazione, arrossamento, astenia, cefalea, vertigine, nausea e brividi

PAZIENTI TRATTATI 2006-2011

70 pz con IBD **steroido-resistenti**

	40 UC (pancolic)	30 CD (26ileal)
CAI (before/after)	12/3	
EI (before/after)	10/2.5	
CDAI (before/after)		210/98
Remission (one week after GMA treatment)	28 (70%)	19 (63%)
Remission after 6 months	24 (60%)	16 (53%)
Remission after 12 months	16 (40%)	12 (43%)



Al termine del trattamento con GMA: remissione totale **47 (67%)**

Digestive and Liver Disease 2007

Gastroentérologie Clinique et Biologique 2010

CONCLUSIONI (1)

- ❖ Rappresenta un'importante innovazione come terapia utile nelle IBDs **attive e steroideo-refrattarie**
- ❖ Si dimostra in grado di indurre una remissione clinica
- ❖ **Non sono segnalabili gravi effetti collaterali**

CONCLUSIONI (2)

La nostra esperienza dimostra come dopo 6 mesi la risposta clinica si riduca di efficacia e in misura maggiore dopo 12 mesi.

Tuttavia i risultati ottenuti e l'assenza di effetti collaterali gravi incoraggiano alla valutazione di nuovi protocolli terapeutici volti a perfezionare sia il “timing” che lo “schedule” del trattamento.

Registro Italiano Aferesi Adacolumn

The screenshot shows the homepage of the 'REGISTRO NAZIONALE AFERESI TERAPEUTICA'. The header includes a logo and navigation links: 'Registro | Statistiche | Comunicazioni | Area Soci | Area Informativa | Collaborazioni | Contatti'. Below the header, there are buttons for 'Home Page', 'H', and 'P'. The main content area is divided into several sections:

- Con il patrocinio di:** A list of logos for various Italian medical societies, including SIN (Società Italiana di Nefrologia), SIGE (Società Italiana di Gastroenterologia), SISA (Società Italiana per lo Studio della Arteriosclerosi), AIGG (Associazione Italiana Gastroenterologi & Endoscopisti Ospedalieri), AII (Associazione Italiana per lo Studio del Fegato), IG-IBD (Gruppo Italiano per lo Studio delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali), and SIT (Società Italiana Trapianti d'Organo).
- Questo sito Internet ha la finalità di portare on line la Banca dati dei trattamenti aferetici eseguiti su tutto il territorio Nazionale.**
- L'aferesi, intesa come metodica preposta al trattamento del plasma, viene praticata con tecniche diversificate in funzione dell'effetto terapeutico ricercato. Utilizzata per il trattamento di un gran numero di malattie che riconoscono meccanismi patogenetici molto dissimili, rappresenta una terapia di interesse multidisciplinare.**
- Gli specialisti di tutte le discipline medico-chirurgiche (anestesia e rianimazione, cardiocirurgia, chirurgia dei trapianti, ematologia, endocrinologia, epatologia, nefrologia, neurologia, oncologia, reumatologia etc.), che utilizzano l'aferesi a scopo terapeutico, sono invitati a collaborare alla realizzazione di questo progetto di carattere nazionale.**
- ESPERIENZA ITALIANA CON SISTEMA ADACOLUMN®**
- INGRESSO ISCRITTI:** A registration form with fields for 'Nome Utente:' and 'Password:', and an 'ACCEDI' button.
- Iscriviti al Registro:** A table showing statistics:

Unità Operative	N°	140
Soci	N°	248
Pazienti trattati	N°	2741
Trattamenti	N°	32144
- Consulta le Statistiche:** A list of links: 'Pazienti trattati per regione', 'Distribuzione per età e sesso', and 'Tecniche utilizzate'.

- Registro di raccolta dati Italiano di aferesi terapeutica
- **ww.aferesi.it w**
- Sezione dedicata ad Adacolumn, on-line da febbraio 2008
- Raccolta dati ancora in corso....
- Qualsiasi centro utilizzatore si può registrare ed inserire i propri dati on-line

Selezione del paziente in Italia

Regione	Città	Pazienti trattati	Trattamenti
Abruzzo	VASTO (0162)	1	5
Basilicat	Studio Adacolumn® - Indicazioni all'aferesi (dal 1994 ad oggi)		
Calabria			
Campani	<u>Rettocolite Ulcerosa</u>		%/Pazienti
Emilia R			
Friuli Ve	Steroido dipendente		67.1%
Lazio			
Liguria	Steroido refrattario		25.4%
Lombard	Intollerante a immunosoppressore		16.8%
Marche			
Molise	Non responsivo a immunosoppressore		24.3%
Piemont			
Puglia	Fistole		0
Sardegna	Manifestazioni extra-intestinali		
Sicilia	Articolazioni		11.6%
Toscana	Cute		1.7%
Trentino	Altro		0.6%
Umbria	Durata della riacutizzazione in corso		
Valle d'A	< 1 mese		18.5%
Veneto	1-3 mesi		20.8%
	> 3 mesi		18.5%
	Cronicamente attiva		8.7%

Selezione del paziente in Italia (1)

Studio Adacolumn® - Diagnosi (dal 1994 ad oggi)		
Rettocolite Ulcerosa		
Anatomy	Gruppi di trattamenti	Dati ulteriori (Selezionare)
E1 Proctite	4	VAI!
E2 Colite Sinistra	66	VAI!
<u>E3 Pancolite</u>	103	VAI!

Studio Adacolumn® - Diagnosi (dal 1994 ad oggi)	
Rettocolite Ulcerosa	
Anatomy: E3 Pancolite	
Severity	Gruppi di trattamenti
S0 Remissione	1
S1 Lieve UC	14
<u>S2 Moderata UC</u>	75
S3 Severa UC	13

Efficacia clinica in Italia

Studio Adacolumn® - Follow up a 12 mesi Valutazione clinica per Rettocolite Ulcerosa (dal 1994 ad oggi)					
	Valutaz. clinica pre aferesi	Follow up a 3 mesi	Follow up a 6 mesi	Follow up a 9 mesi	Valutaz. finale a 12 mesi
Remissione clinica	173	117	88	63	77
Risposta clinica	Gruppi di trattamenti	8	7	2	4
Invariato	(media s.d. CAI: 7.3±3.1)	30	19	12	12
Schede non inserite (schede in corso di valutazione o non valutate)		18	59	96	80

CLINICAL ACTIVITY INDEX (CAI)

- Remissione clinica: quando il CAI è = o < 4
- Risposta clinica: quando il CAI diminuisca almeno di 3 punti

Remissione clinica:

3 mesi: 67%

6 mesi: 51%

Efficacia clinica in Italia (2)

Studio Adacolumn® - Complicanze immediate (dal 1994 ad oggi)			
Codice	Tipo di complicanza	%	Trattamenti
OO	ASSENZA DI COMPLICANZE	95.01	953
CE	CEFALEA	3.79	38
CC	COAGULAZIONE DEL CIRCUITO CON INTERRUZIONE DEL TRATTAMENTO	0.2	2
HP	EMATOMA IN SEDE DI PUNTURA O EMORRAGIA	0.1	1
AR	INTERRUZIONE PRECOCE DEL TRATTAMENTO (per altre cause di quelle citate)	0.1	1
RL	REAZIONE ALLERGICA LIEVE: eruzione cutanea, congiuntivite	0.4	4
ST	STANCHEZZA	0.4	4
	Non precisato	0	0
	TOTALE TRATTAMENTI	100%	1003

