

Краткий отчет

Новый метод афереза лейкоцитов/тромбоцитов для индукции безстероидной ремиссии при язвенном колите: контролируемое рандомизированное пилотное исследование

Вольфганг Круис (Wolfgang Kruis)^a, Фьонг Нгуен (Phuong Nguyen)^a, Джулия Моргенштерн (Julia Morgenstern)^a, Вольфганг Рамлоу (Wolfgang Ramlow)^b, Аксель Дигнасс (Axel Dignass)^c, Андреас Столлмах (Andreas Stallmach)^d, Ута Дреббер (Uta Drebber)^e

^aЕвангелическая больница Кальк, Кельнский университет, Германия ^bЦентр афереза г. Росток (ACR), г. Росток, Германия, ^c медицинский факультет I, Клиника Св. Марка группы Агаплезиион и Клинический исследовательский центр колита и болезни крона Рейн-Майн, Франкфурт-на-Майне, Германия, ^d кафедра внутренней медицины IV (гастроэнтерология, гепатология, инфекционные болезни), Университетская клиника Йены, Йена, Германия ^e кафедра патологии, Кельнский университет, Германия

ответственный автор: Вольфганг Круис (Wolfgang Kruis), врач, доктор философии, Евангелическая больница Кальк, Бухфорстштрассе (Buchforststrasse), 2, 51103, Кельн, Германия. Тел.: +49 221 82895512; факс: +49 221 82895291; Email: Wolfgang.Kruis@googlemail.com

Конференция: неделя заболеваний пищеварительной системы, Вашингтон, 2018 г.

Аннотация

Предпосылки и цели: При язвенном колите [ЯК] выраженной активности, резистентном к месалазину, общепринятой практикой является лечение стероидами или подавление иммунного ответа. Были изучены эффективность и безопасность альтернативной эскалационной терапии с использованием нового устройства для афереза лейкоцитов.

Методика: было проведено проспективное рандомизированное контролируемое многоцентровое пилотное исследование, в котором сравнивали аферез лейкоцитов с приёмом преднизолона при рефрактерном ЯК (индекс активности болезни [ИАБ] > 4 и < 8). Группа А проходила аферез еженедельно в течение пяти недель. Группа Р принимала преднизолон перорально в дозе 40 мг/день с постепенным снижением до 0 мг на 6 неделе. Основным конечным показателем была клиническая ремиссия без стероидов [ИАБ < 2] на 12 неделе. Была также проанализирована клиническая эффективность.

Результаты: В исследовании участвовали 24 пациента, 13 из были выбраны рандомно в группу А и 11 - в группу Р. Клиническая ремиссия при приёме стероидов на 12 неделе была достигнута у 3 из 12 пациентов [25,0%] после афереза и 2 из 10 [20,0%] пациентов, принимающих преднизолон. [$p = 1,0$]. Через 12 недель было 75,0% пациентов с объективным ответом в группе А и 50,0% пациентов с объективным ответом в группе Р. Среднее значение ИАБ улучшилось в обеих экспериментальных группах [$p = 0,008$]. С-реактивный белок снизился с $6,0 \pm 5,3$ до $3,8 \pm 3,7$ мг / л через 12 недель в группе А и увеличился с $5,2 \pm 6,0$ до $6,3 \pm 7,9$ мг / мл в группе Р. Оба метода лечения пациентами переносились хорошо. В группе А не наблюдалось никаких неожиданных серьёзных побочных реакций. В группе Р у одного пациента наблюдалось симптоматическая инфекция *Clostridium difficile*.

Выводы: У пациентов с ЯК выраженной активности, трудно поддающихся лечению месалазином, применение нового метода афереза лейкоцитов показало многообещающие результаты. Сравнение этого метода с лечением преднизолоном показало аналогичную терапевтическую эффективность и высокую безопасность, что даёт возможность избежать системного применения стероидов.

CIV-12-01-003581

Ключевые слова: язвенный колит; аферез; рефракторный месалазин

1. Введение

В случаях отсутствия ответа на месалазин при язвенном колите [ЯК] выраженной активности рекомендуется системное применение кортикостероидов.¹ Однако системная стероидная терапия может вызвать кариез.

Адсорбционный цитаферез - это нефармакологический подход к лечению хронических иммунологических нарушений. Считается, что снижение воспалительной нагрузки за счет удаления клеток крови повышает терапевтическую эффективность при воспалительном заболевании кишечника выраженной активности.²

Терапевтические эффекты афереза описаны в ЯК³, но существует лишь несколько контролируемых исследований, а результаты сомнительные. Большинство исследований было проведено с применением цитафереза, гранулоцитафереза, выделением моноцитов и макрофагов.³ Провоспалительные тромбоциты также могут играть важную роль при воспалительном заболевании кишечника.⁴ Была представлена новая методика система цитафереза, которая также удаляет тромбоциты.⁵

Некоторые данные испытаний и новые технологии послужили поводом для испытания новой системы цитафереза при ЯК выраженной активности.

2. Методика

2.1. План исследования

Было проведено контролируемое рандомизированное открытое исследование, в котором оценивалась эффективность и безопасность новой системы цитафереза по сравнению с приёмом преднизолона при ЯК выраженной активности.

Исследование проводилось в четырех гастроэнтерологических центрах Германии. Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов. Исследование было одобрено Врачебной палатой Северного Рейна-Вестфалии и локальными этическими комитетами; CIV-12-01-003581.

2.2. Участники исследования

В исследовании принимали участие пациенты от 18 до 75 лет, соответствующие следующим критериям:

1. Пациенты с ЯК выраженной активности, которые принимали 5-аминосалициловую кислоту [5-ASA], в дозе ≥ 3 г/день в течение ≥ 2 недель.
2. Пациенты с ЯК с [ИАБ] ≥ 4 и ≤ 8 по шкале Мейо (с неинвазивными маркерами), с ЯК эндоскопической формы ≥ 1 и гистологически подтвержденным воспалением: оценка по шкале Райли ≥ 2 баллов (раздел 1) или наличие язвы или абсцессы крипт.
3. Пациенты с ЯК > 15 см от края ануса.
4. Свободный доступ к периферическим венам для афереза.

Критерии по исключению пациентов были следующими:

1. Приём преднизолона в течение последних 2 недель.
2. Приём биологических препаратов или иммунодепрессантов в течение последних 2 лет.
3. Нарушения свертываемости крови, уровень фибриногена > 700 мг / дл и сопутствующая антикоагулянтная терапия.
4. С историей одного или нескольких случаев тромбоза легочной артерии или тромбоза глубоких вен.
5. Кишечные патогены.

2.3. Рабочая группа

Выборка проводилась централизованно. В протоколе вмешательства описывалось пять курсов афереза в течение пяти недель подряд [группа А]. Длительность одного курса - 1 час со скоростью потока 30 мл/мин, в результате чего было обработано 1,8 л крови.

В качестве действующего препарата сравнения использовался преднизолон (перорально) [группа Р] в дозе 40 мг/день утром. Дозу снижали на 10 мг каждые 7 дней на протяжении 4 недель, а на 5 и 6 неделе - 5 мг/день.

Пациенты принимали месалазин в исходной дозе на протяжении всего исследования.

Immunopure (Nikkiso) - устройство для проведения адсорбции/афереза и селективной деплеции лейкоцитов и тромбоцитов.⁶ Оно состоит из одноканального модуля, заполненного шариками из ионообменные смолы.

2.4. Оценка

Во время скрининга пациенты, подходящий для участия в исследовании, давали письменное согласие. Исходные данные определялись с помощью анамнез эндоскопии с гистологией, шкалы Мейо [ИАБ], тестов кала на патогены и лабораторно-диагностических исследований. Эндоскопию проводили местные гастроэнтерологи, гистологию - главный патологоанатом. Повторная оценка проводилась на 2-й, 3-й, 4-й, 5-й, 6-й и 12-й неделях, включающая оценку эффективности [оценка по частичной шкале Мейо - ИАБ без эндоскопии] приёма сопутствующих лекарств, оценку побочных эффектов, контроля соответствия и лабораторно-диагностические исследования.

2.5. Конечные результаты

Конечные результаты классифицировались как ремиссия или ответ на основании оценки по шкале Мейо и требований к стероидам. Клиническая ремиссия согласно оценке по частичной шкале Мейо составила ≤ 2 [без эндоскопии] и без применения стероидов. Клинический ответ определялся как снижение ИАБ на ≥ 1 по сравнению с исходным уровнем без необходимости увеличения или приёма ещё одного курса стероидов. Основным конечным показателем была клиническая ремиссия без приёма стероидов на 12 неделе. Вторичным конечным показателем был клинический ответ на 12 неделе, изменения С-реактивного белка [СРБ] и время до развития рецидива.

2.6. Статистика

Целью исследования была «экспериментальная проверка концепции». Распределение Гаусса проверялось с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Групповые сравнения проводились с использованием критерия Манна-Уитни или критерия Вилкоксона. Для анализа ремиссии/ответа использовался точный критерий Фишера.

3. Результаты

3.1. Особенности этапа включения и распределение участников исследования

Всего в исследовании принимало участие 24 пациента [выборка для оценки безопасности и массового обследования]. При отборе два пациента соответствовали критериям исключения: у одного была лихорадка, а у другой проходил лечение преднизолоном в течение последних 2 недель. Биографические данные и соответствие критериям исследования оставшихся 22 пациентов [ITT: популяция, сформированная в соответствии с назначенным вмешательством] показаны в Таблице 1 и на Рисунке 1.

Таблица 1. Характеристики пациентов на этапе включения [популяция сформированная в соответствии с назначенным вмешательством]

Характеристика	Аферез [группа А]	Преднизолон [группа Р]
К-во пациентов	12	10
Пол [ж/м]	6/6	5/5
Возраст [лет, среднее \pm стандартное отклонение]	38.8 \pm 10.5	38.6 \pm 8.2
ИМТ [кг/м ² , среднее \pm стандартное отклонение]	24.7 \pm 3.0	23.1 \pm 1.8
Курящие [к-во, %]	0/12 (0%)	1/10 (10%)
Степень ЯК		
Левосторонний колит [%]	66.7%	80.0%
Панколит [%]	33.3%	10.0%
Проктит >15 см [%]	0%	10.0%
СРБ [мг/л]	6.0 \pm 5.3	5.2 \pm 6.0
ИАБ [среднее \pm стандартное отклонение]	7.6 \pm 1.1	7.6 \pm 1.9
Месалазин перед исследованием [месяцев]	9.8 \pm 7.6	10.5 \pm 4.6

Сокращения: ИМТ- индекс массы тела; ЯК - язвенный колит; ИАБ - индекс активности болезни.

Причинами исключения протокольной совокупности [ПС] были преждевременное прекращение исследования из-за ошибки медсестры/контрольного устройства [n = 1], ухудшения ЯК [n = 4]. Один пациент пропустил обследование из-за временного побочного эффекта. Таким образом, в группу ПС вошли 13 пациентов.

В 59 из 60 сеансов афереза [98,3%] всего было обработано 1800 мл крови. 57 из 60 запланированных процедур афереза выполнялись согласно плану, что соответствует 95% осуществимости с технической точки зрения.

3.2. Начальные и конечные результаты

Статистические показатели безстероидной ремиссии [ИАБ≤2] и частота ответа на 12-й неделе популяции ПТ были практически одинаковым в обеих группах исследования [Рисунок 2]. 3 из 12 пациентов группы А [25%] достигли полной ремиссии, в то время как соответствующий показатель в группе Р составил 2/10 [20%] [p = 1,0].

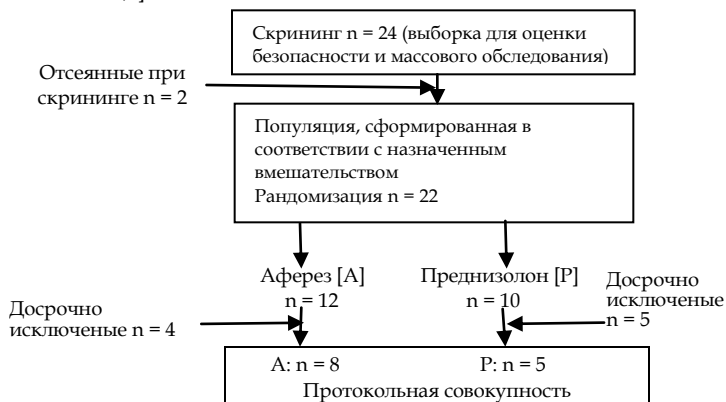


Рис. 1. Распределение участников клинического исследования

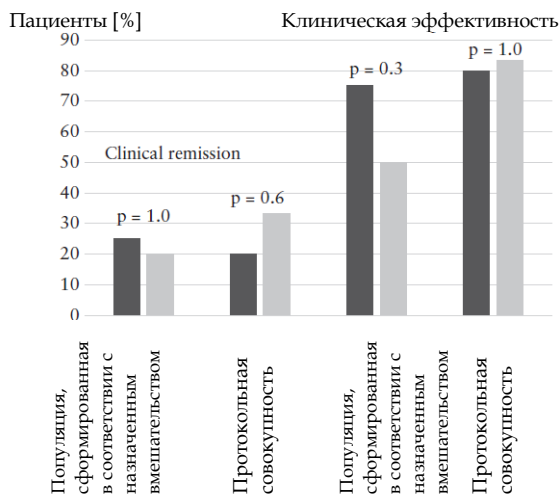


Рис. 2. Результаты лечения; клиническая ремиссия; отказ от кортикостероидов на 12 нед.; клинический ответ: снижение ИАБ≥ 1].

Клиническая эффективность (снижение ИАБ≥1) наблюдалось в группе А у 9 из 12 [75%] пациентов, а в группе Р - у 5 из 10 пациентов [50%] [p = 0,378].

В популяции РР процент больных, выходящих в клиническую ремиссию, составил 20,0% [2 из 10 пациентов] для группы А и 2 из 6 пациентов [33,3%] для группы Р [p = 0,604]. Соответствующие числа клинической эффективности составляли 80% [8 из 10 пациентов] для группы А и 83,3% [5 из 6 пациентов] для группы Р [p = 1,0].

Средние показатели по шкале Мейо значительно улучшились в обеих экспериментальных группах за период исследования. В популяции ПТ они снизились с 7,6 ± 1,1 на момент включения в исследование до 4,2 ± 2,6 на 12 неделе [p = 0,008], в то время как в группе Р он снизился с 7,6 ± 1,9 до 4,7 ± 3,0 за этот период [рис. 3] [p = 0,008]. Хотя снижение показателей по шкале Мейо идентичным в обеих экспериментальных группах на 12 неделе, ответ был получен быстрее при приеме преднизолона [группа Р: 15,2 ± 11,2 дня], чем при аферезе [группа А: 33,4 ± 33,0 дня] [p > 0,05]. 10 из 19 пациентов (52,6%) набрали 0 баллов по шкале Мейо при ректальном кровотечении на 12 неделе, 5 из 9 пациентов в группе А (55,5%) и 5 из 10 (50,0%) в группе пациентов, принимающих преднизолон.

Показатель СРБ был противоположным в экспериментальных группах. В группе А средние значения СРБ в ПТ-популяции снизились с 6,0 ± 5,3 до 3,8 ± 3,7 мг/л между этапом включения и 12-й неделей исследования. В группе Р показатель увеличился с 5,2 ± 6,0 до 6,3 ± 7,9 мг/л. Представление блочной диаграммы [рисунок 4] показало широкий диапазон, не позволяющий определить достоверные различия [p > 0,05].

ИАБ [среднее ± стандартное отклонение]

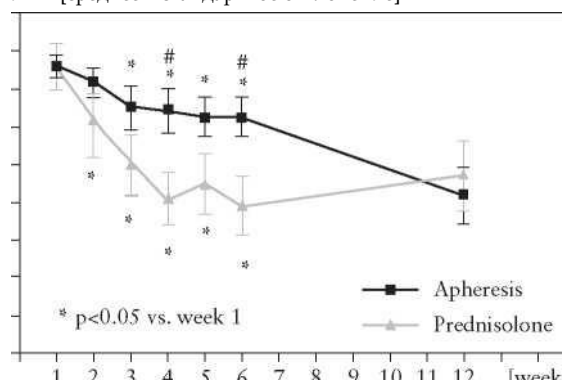


Рис. 3. Изменения индекса активности болезни от этапа включения до 12 недели.

Популяция, сформированная в соответствии с назначенным вмешательством: СРБ

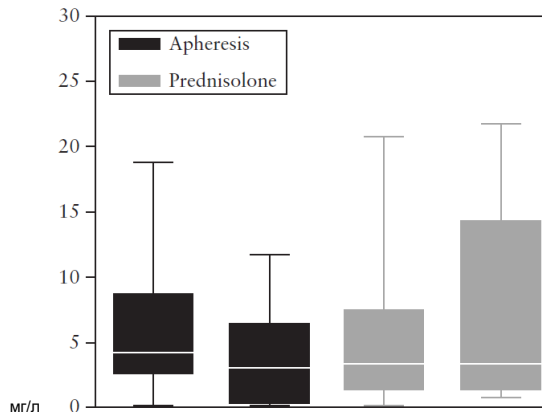


Рис. 4. Изменения СРБ от этапа включения до 12 недели (блочная диаграмма).

Переносимость обеих схем лечения была очень хорошей. Всего было зарегистрировано четыре побочных эффекта в выборке для оценки безопасности и массового обследования [n = 24]. Они были классифицированы как несерьезные, а один из них как серьезный. Исследование не было прекращено.

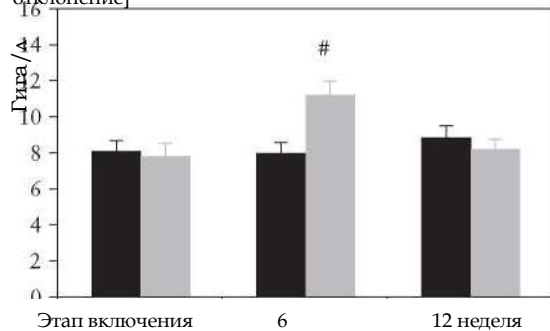
В выборке массового исследования у 1 пациента наблюдалась лихорадка, поэтому он не был включен в исследование. В экспериментальной группе А 1 пациент перенес бронхит. В группе Р было зарегистрировано 2 побочных эффекта. У 1 пациента возникла ишиалгия, которая исчезла при приеме обезболивающих. У того же пациента появились признаки инфицирования *Clostridium difficile*. Этот эффект был оценен как серьезный и требовал применения антибактериальной терапии. Пациент выздоровел и продолжил прием преднизолона.

Лабораторные показатели отсутствия клинически значимых изменений. Контроль количества лейкоцитов и тромбоцитов в группе А до и после каждой процедуры афереза и не показал значительных изменений. Кроме того, на протяжении всего исследования изучали количество лейкоцитов и тромбоцитов [Рисунок 5]. Никаких неожиданных изменений не наблюдалось.

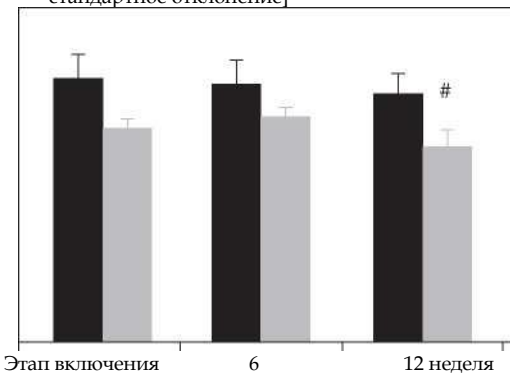
4. Обсуждение

Аферез показал аналогичную терапевтическую эффективность для индукции ремиссии без стероидов и улучшения у пациентов с месалазин-рефрактерным ЯК (как и у пациентов, принимающих преднизолон). Проведение афереза показало лучшие результаты. Аферез показал высокую безопасность и переносимость. Сообщалось об одном серьезном побочном эффекте - инфекции *S. difficile* при приеме преднизолона. Практически всегда [~ 98%] проведение афереза было не вызвало технических сложностей. Несмотря на перспективную концепцию удаления инвазивных циркулирующих лейкоцитов, основное плацебо-контролируемое исследование не смогло доказать терапевтический успех в отношении лечения ЯК выраженной активности.⁶ Однако ретроспективный анализ обнаружил значительную эффективность только у пациентов с

А Популяция, сформированная в соответствии с назначенным вмешательством: лейкоциты [среднее ± стандартное отклонение]



В Популяция, сформированная в соответствии с назначенным вмешательством: лейкоциты [среднее ± стандартное отклонение]



■ Плaцaмa ■ Аферез ■ Преднизолон

Рис. 5. Подсчет лейкоцитов и тромбоцитов на протяжении всего исследования.

гистологически доказанной инвазией клеток воспалительного инфильтрата.⁷ Соответствующая целевая популяция пациентов имела решающее значение. Многообещающие результаты были описаны при ЯК разной интенсивности^{8,9} в группе с указанными пациентами.

В современном цитафереза в основном удаляют гранулоциты и моноциты/макрофаги. Новый модульный фильтр-адсорбер, используемый в данном исследовании, удаляет не только моноциты и гранулоциты аналогичных размеров, но и тромбоциты,⁶ что может объяснить его эффективность.

Было проведено рандомизированное контролируемое исследование, сравнивающее новый метод афереза в качестве исследуемого лечения с применением преднизолона при ЯК выраженной активности, резистентному к месалазину. Оценка результатов показала аналогичную терапевтическую эффективность и высокую безопасность афереза. Это исследование по проверке концепции должно инициировать проведение подтверждающего клинического исследования.

Финансирование

Спонсором данного исследования была компания «НИККИСО Европа ГмБХ» (NIKKISO Europe GmbH), Германия.

Конфликт интересов

В.К. (WK) был спикером, консультантом и/или членом консультативного совета компании «Аббви» (Abbvie), «Ардейфарм» (Ardeypharm), «Фальк» (Falk), «Ферринг» (Ferring), «Генетик Анализис» (Genetic Analysis), Грефе и Унзер (Gräfe & Unze), «Институт Аллергосан» (Institut Allergosan), «Никкисо» (Nikkiso), «Отсука» (Otsuka), «Тиллотс» (Tillots); Дж.М. (JM) был спикером для корпорации «Фальк» (Falk); А.Д. (AD) был спикером и консультантом для компании «Аббви» (Abbvie), корпорации «Фальк» (Falk), компании «Ферринг» (Ferring); М.С.Д. (MSD) был консультантом компании «Роше/Генентек» (Roche / Genentech), «Такедэ» (Takeda), «Мундифарма» (Mundipharma), «Янссен» (Janssen), «Хоспира» (Hospira), «Пфайзер» (Pfizer), «Sandoz / Hexal» (Sandoz / Hexal), «Селджен» (Celgene), «Тиллотс» (Tillots), спикером компании «Отсука» (Otsuka) и «Вифор» (Vifor), и получил грант «Института общественного благосостояния» (Institut für Gemeinwohl); компания «Аббви» (AbbVie), «Амген» (Amgen), «Астеллас» (Astellas), «Биоген» (Biogen), «Янссен» (Janssen), М.С.Д. (MSD), «Мундифарма» (Mundipharma), «Шилд Терапюйтис» (Shield Therapeutics), «Саммит Терапюйтис» (Summit Therapeutics) и «Такедэ» (Takeda) оплатили А.С. (AS) расходы за консультационные услуги; Г.П. (GP), В.Р. (WR) и Ю.Д. (UD) не предоставили информации для раскрытия.

Подтверждение

Авторы благодарят сотрудников компании «Никкисо» (NIKKISO) в Германии, особенно доктора Томаса Сикера (Thomas Sicker) и Дирка Прейна (Dirk Preine), за потраченное на это исследование время и усилия. Особая благодарность Фиснике Верлаку (Fisnike Verlaku) (медсестре).

Вклад авторов

В.К. (WK) разработал и провел исследование, проанализировал данные и написал статью по результатам исследования. П.Н. (PN), Дж.М. (JM), В.Р. (WR), А.Д. (AD) и А.С. (AS) провели исследование и критически отредактировали проект статьи. У.Д. выполнил центральную патологию и пересмотрели проект статьи. Все авторы одобрили окончательную версию статьи.

Список использованной литературы

- Хардборд М. (Harbord M), Элиаким Р. (Eliakim R), Беттенворт Д. (Bettenworth D) и соавт. Научно доказанная общеевропейская методология диагностике и лечению язвенного колита, основанная на фактических данных. Медицинский журнал о воспалительных заболеваниях кишечника, 2017;11:769-84.
- Саез-Гонсалес Э. (Sáez-González E), Море И. (Moret I), Альварес-Сото (Alvarez-Sotomayor D) и соавт. Иммунологические механизмы адсорбционного цитафереза при воспалительном заболевании кишечника. Американский журнал болезней органов пищеварения, 2017;62:1417-25.
- Саньябади АР (Saniabadi AR), Танака Т. (Tanaka T), Ямаммото Т. (Yamamoto T), Круис В (Kruis W), Сакко Р. (Sacco R.) Грануломоноцитферез как клеточно-зависимый вариант лечения пациентов с воспалительным заболеванием кишечника: методы и клинические особенности для достижения лучших терапевтических результатов. Журнал клинического афереза, 2019;34:51-60. doi: 10.1002/jca.21670.

4. Данезе С. (Danese S), Мотт Сд. Сде. Л. (Motte Cd Cde L), Фиокки К. (Fioschi C.) Тромбоциты при воспалительном заболевании кишечника: клинические, патогенные и терапевтические последствия при выборе правильной тактики лечения. Американский журнал гастроэнтерологии, 2004;99:938-45.
5. Рамлоу В. (Ramlow W), Вайц Г. (Waitz G), Спарманн Дж. (Sparmann G), Профет Х. (Prophet H), Бодаммер П. (Bodammer P), Эммрих Дж. (Emmrich J.) Первое применение на людях нового модульного фильтра-адсорбера у пациентов с ЯК выраженной активности: пилотное исследование. Журнал «Терапевтический аферез и диализ», 2013;17:339-47.
6. Сандс Б.Е. (Sands BE), Сандборн В.Дж. (Sandborn WJ), Фиган Б. (Feagan B) и соавт. Исследовательская группа Adacolumn (лейкоцитаферезной колонки адсорбционного типа). Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование афереза гранулоцитов / моноцитов при активном язвенном колите. Журнал гастроэнтерологии, 2008;135:400-9.
7. Круис У. (Kruis W), Нгуйен П. (Nguyen P), Моргенстерн Дж. (Morgenstern J.) Эффективность адсорбционного афереза гранулоцитов/моноцитов при язвенном колите разной степени тяжести. Журнал «Пищеварение», 2015;92:39-44.
8. Ямамото Т. (Yamamoto T), Ида Т. (Iida T), Икея К. и соавт. Комплексное ретроспективное исследование, направленное на идентификацию пациентов, которые хорошо реагируют на адсорбционный грануломоцитаферез при активном язвенном колите различной степени тяжести. Журнал клинической и трансляционной гастроэнтерологии, 2018;9:170.
9. Де Кассан К. (De Cassan C), Саварино Е. (Savarino E), Марон П. (Marson P) и соавт. Грануломоцитаферез как более эффективный метод лечения язвенного колита умеренной активности по сравнению со средней и тяжелой формами. Всемирный журнал гастроэнтерологии, 2014;20:17155-62.



Short Report

Novel Leucocyte/Thrombocyte Apheresis for Induction of Steroid-Free Remission in Ulcerative Colitis: A Controlled Randomized Pilot Study

Wolfgang Kruis,^a Phuong Nguyen,^a Julia Morgenstern,^a
Wolfgang Ramlow,^b Axel Dignaß,^c Andreas Stallmach,^d Uta Drebber^e

^aEvangelisches Krankenhaus Kalk, University of Cologne, Germany ^bApheresis Center Rostock (ACR), Rostock, Germany ^cDepartment of Medicine I, Agaplesion Markus Hospital and Crohn Colitis Clinical Research Center Rhein-Main, Frankfurt/Main, Germany ^dDepartment of Internal Medicine IV (Gastroenterology, Hepatology, Infectious Diseases), University Hospital of Jena, Jena, Germany ^eDepartment of Pathology, University of Cologne, Germany

Corresponding author: Wolfgang Kruis MD, PhD, Evangelisches Krankenhaus Kalk, Buchforststrasse 2, 51103 Cologne (Köln), Germany. Tel: +49 221 82895512; Fax: +49 221 82895291; Email: Wolfgang.Kruis@googlemail.com

Conference: Digestive Disease Week Washington, 2018.

Abstract

Background and Aims: In active ulcerative colitis [UC] refractory to mesalazine, escalation to either steroids or immunosuppression is common practice. The efficacy and safety of alternative escalation therapy with a novel leukocyte apheresis device were studied.

Methods: This was a prospective, randomized, controlled multicentre pilot study comparing leukocyte apheresis with prednisolone in refractory UC (disease activity index [DAI] ≥ 4 and ≤ 8). Group A received weekly apheresis over five consecutive weeks. Group P received oral prednisolone 40 mg/day tapered to 0 mg at week 6. The primary end point was steroid-free clinical remission [DAI ≤ 2] at week 12. Clinical response was also analysed.

Results: Twenty-four patients were enrolled, 13 of whom were randomized into group A and 11 into group P. Clinical remission off steroids at week 12 was achieved in 3/12 patients [25.0%] with apheresis and 2/10 [20.0%] with prednisolone [$p = 1.0$]. The response rate after 12 weeks was 75.0% in group A and 50.0% in group P. Mean DAI scores improved in both treatment groups [$p = 0.008$]. C-reactive protein decreased from 6.0 ± 5.3 to 3.8 ± 3.7 mg/L at 12 weeks in group A and increased from 5.2 ± 6.0 to 6.3 ± 7.9 mg/mL in group P. Both treatments were well tolerated. No unexpected serious adverse events were seen in group A. In group P one symptomatic infection with *Clostridium difficile* occurred.

Conclusions: In patients with active UC refractory to mesalazine a novel leukocyte apheresis showed promising results. A comparison with prednisolone revealed similar therapeutic effectivity and excellent safety, providing the chance to escalate without systemic steroids.

CIV-12-01-003581

Key Words: Ulcerative colitis; apheresis; mesalamine refractory

1. Introduction

In cases of no response to mesalazine in active ulcerative colitis [UC] escalation to systemic corticosteroids is recommended.¹ However, systemic steroid therapy carries risks.

Adsorptive cytapheresis is a non-pharmacological approach for chronic immune disorders. The reduction in inflammatory load through removing blood cells is thought to enhance therapeutic effectivity in active inflammatory bowel disease.²

The therapeutic effects of apheresis have been described in UC³ but only a few controlled studies exist and the results are controversial. Most studies were made with a cytapheresis system depleting the circulating blood of granulocytes, monocytes and macrophages.³ Platelets may also play a proinflammatory role in inflammatory bowel disease.⁴ A novel cytapheresis system was introduced, which also depletes platelets.⁵

Some data from trials and new technology gave reasons to test a novel cytapheresis system in active UC.

2. Methods

2.1. Study design

This was a controlled, randomized, open study that assessed the efficacy and safety of a novel cytapheresis system in comparison to prednisolone in active UC.

The study was conducted at four gastroenterology centres in Germany. Written informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ärztekammer Nordrhein and by local ethics committees; CIV-12-01-003581.

2.2. Patients

Patients between 18 and 75 years fulfilling following criteria were included:

1. Patients with active UC despite 5-aminosalicylic acid [5-ASA] treatment with ≥ 3 g/day for ≥ 2 weeks.
2. UC activity with a non-invasive part of the Mayo score disease activity index [DAI] ≥ 4 and ≤ 8 , endoscopic part ≥ 1 , and histologically confirmed inflammation: Riley score ≥ 2 points in section 1, or presence of ulceration or crypt abscesses.
3. UC >15 cm from the anal verge.
4. Adequate peripheral venous access for apheresis.

Main exclusion criteria were:

1. Prednisolone use within the last 2 weeks.
2. Biologicals or immunosuppressants within the past 2 years.
3. Coagulation disorders, fibrinogen level of >700 mg/dL and concomitant anticoagulant therapy.
4. History of one or more episodes of pulmonary embolism or deep vein thrombosis.
5. Enteric pathogens.

2.3. Study groups

Randomization was performed centrally. The intervention protocol comprised five apheresis courses over five consecutive weeks [group A]. One course lasted 1 h, with a flow of 30 mL/min, leading to a volume of 1.8 L blood processed.

The comparator was oral prednisolone [group P], 40 mg/day in the morning, which was decreased by 10 mg after every 7 days until week 4, and in weeks 5 and 6 by 5 mg.

Patients stayed on their baseline dose of mesalazine throughout the study.

Immunopure (Nikkiso) is an adsorptive apheresis device for the selective depletion of leukocytes and platelets.⁶ It comprises a disposable module filled with polyarylate resin beads.

2.4. Assessments

During screening eligible patients gave written consent and baseline data were established comprising medical history, endoscopy with histology, Mayo score [DAI], stool tests for pathogens and laboratory tests. Endoscopy was performed by local gastroenterologists, while histology was examined by a central pathologist. Re-evaluation occurred at weeks 2, 3, 4, 5, 6 and 12 and consisted of efficacy assessments [partial Mayo score – DAI without endoscopy], concomitant medication, adverse events, control of compliance and laboratory tests.

2.5. Outcomes

Outcomes were classified as remission or response based on the Mayo score and steroid requirements. Clinical remission was defined as a partial Mayo score ≤ 2 [without endoscopy] and no steroid use. Clinical response was defined as a reduction in DAI by ≥ 1 compared to baseline, with no need for increased or new courses of steroids. The primary end point was steroid-free clinical remission at week 12. Secondary end points were clinical response at week 12, changes in C-reactive protein [CRP] and time to relapse.

2.6. Statistics

The aim of the study was a 'proof-of-concept'. Normal distribution was tested using the Kolmogorov–Smirnov test. Group comparisons were performed using either the Mann–Whitney U- or the Wilcoxon test. Fisher's exact test was used for the analysis of remission/response.

3. Results

3.1. Baseline characteristics and patient disposition

In total 24 patients were enrolled [screening and safety population]. Before randomization two patients fulfilled exclusion criteria: one was febrile while the other one was on prednisone therapy within the last 2 weeks of screening. Biographic data and assignments to the study of the remaining 22 patients [ITT: intent-to-treat population]

Table 1. Characteristics of the patients at baseline [intent-to-treat population]

Characteristic	Apheresis [group A]	Prednisolone [group P]
Patients [n]	12	10
Sex [female/male]	6/6	5/5
Age [years, mean \pm SD]	38.8 \pm 10.5	38.6 \pm 8.2
BMI [kg/m ² , mean \pm SD]	24.7 \pm 3.0	23.1 \pm 1.8
Smoker [number, %]	0/12 (0%)	1/10 (10%)
Extent of UC		
Left-sided colitis [%]	66.7%	80.0%
Pancolitis [%]	33.3%	10.0%
Proctitis >15 cm [%]	0%	10.0%
C-reactive Protein [mg/L]	6.0 \pm 5.3	5.2 \pm 6.0
DAI [mean \pm SD]	7.6 \pm 1.1	7.6 \pm 1.9
5-ASA prior to study [months]	9.8 \pm 7.6	10.5 \pm 4.6

Abbreviations: BMI, body mass index; UC, ulcerative colitis; DAI, disease activity index.

are depicted in Table 1 and Figure 1. Reasons for exclusion of the per-protocol population [PP] were premature study termination due to a mistake of the study nurse/monitor [$n = 1$], premature termination due to worsening UC [$n = 4$] and in one patient one study visit was missed because of a transient adverse event. Thus, the PP group consisted of 13 patients.

In 59 out of 60 apheresis treatment sessions [98.3%] complete blood volumes of 1800 mL were processed. Fifty-seven of the 60 intended apheresis treatment sessions were regularly completed, corresponding to a technical feasibility of 95%.

3.2. Primary and secondary outcomes

Steroid-free remission [DAI ≤ 2] and response rates at week 12 of the ITT population were not statistically different between the two treatment groups [Figure 2]. Of 12 patients in group A, three [25%] achieved complete remission while the corresponding numbers in group P were 2/10 [20%] [$p = 1.0$].

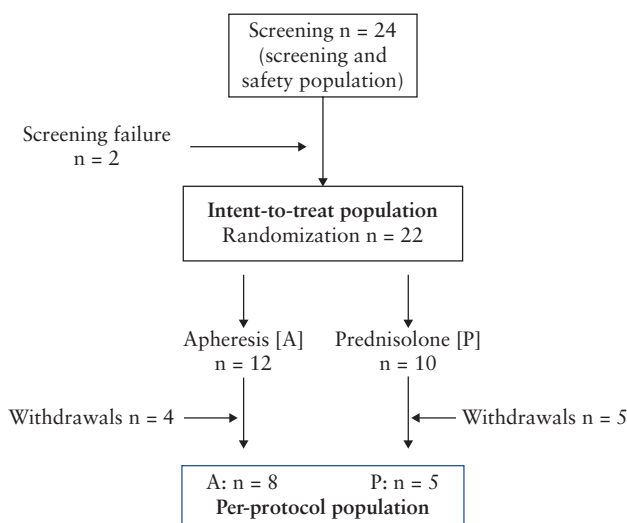


Figure 1. Disposition of the patients in the study.

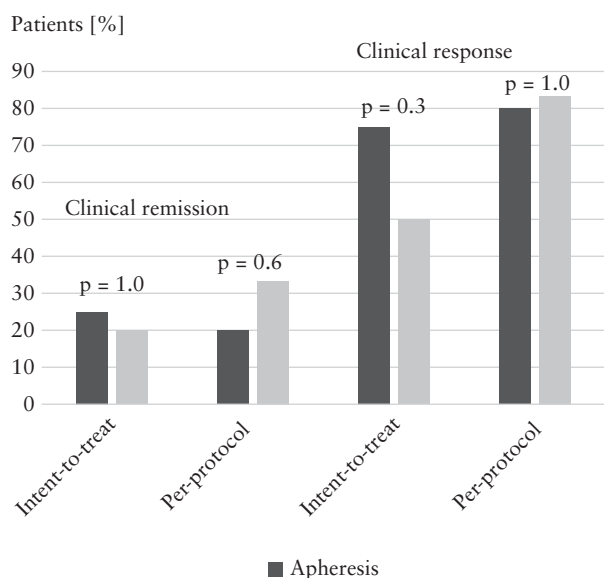


Figure 2. Therapeutic outcomes ;clinical remission: off steroids week 12; clinical response: reduction of disease activity index ≥ 1 .

Clinical response (decrease of DAI ≥ 1) occurred in group A in 9/12 [75%] while 5/10 patients [50%] in group P [$p = 0.378$].

Remission rates in the PP population were 2/10 patients [20.0%] for group A and 2/6 patients [33.3%] for group P [$p = 0.604$]. The respective numbers for clinical response were 8/10 [80.0%] for group A patients and 5/6 [83.3%] for group P patients [$p = 1.0$].

Mean MAYO/pMAYO scores improved in both treatment groups significantly over the study period. In the ITT population it decreased from 7.6 ± 1.1 at baseline to 4.2 ± 2.6 at week 12 [$p = 0.008$], while in group P it decreased from 7.6 ± 1.9 to 4.7 ± 3.0 over this period [Figure 3] [$p = 0.008$]. While the decline in MAYO/pMAYO score was very similar in both treatment groups at week 12, response was achieved faster under prednisolone [group P: 15.2 ± 11.2 days] than with apheresis [group A: 33.4 ± 33.0 days] [$p > 0.05$]. Ten of 19 patients (52.6%) scored 0 in the MAYO subscore for rectal bleeding at week 12, 5/9 patients in group A (55.5%) and 5/10 (50.0%) under prednisolone.

CRP showed contrasting trends between the treatment groups. In group A mean CRP values of the ITT population decreased from 6.0 ± 5.3 to 3.8 ± 3.7 mg/L between baseline and week 12. In group P it increased from 5.2 ± 6.0 to 6.3 ± 7.9 mg/L. A box-plot presentation [Figure 4] revealed wide ranges, preventing determination of significant differences [$p > 0.05$].

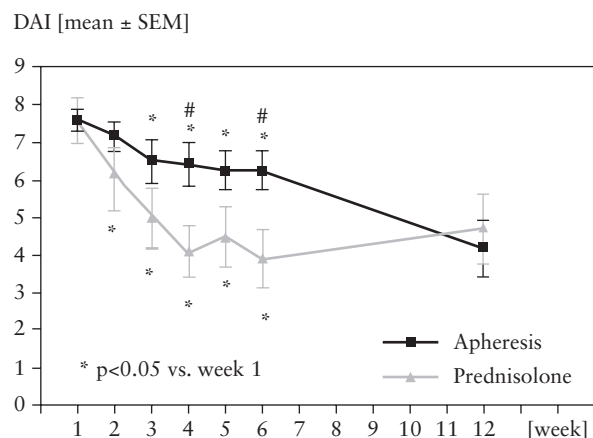


Figure 3. Changes in disease activity index from baseline to week 12.

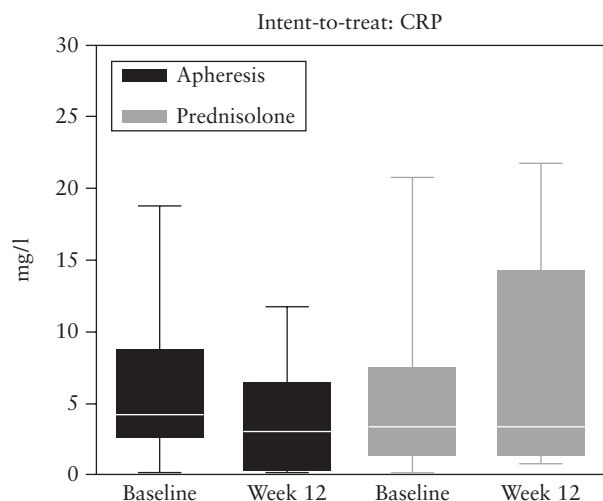


Figure 4. C-reactive protein at baseline and at week 12 (box-plot presentation).

The tolerability of both treatment regimens was very good. A total of four adverse events were reported in the screening and safety population [$n = 24$]. Four events were classified as non-serious, one as serious. No adverse events required withdrawal from the investigation.

At screening, one patient was febrile and was thus not included. In treatment group A one patient suffered from bronchial infection at one visit. In group P two events were reported. One patient experienced ischialgia, which resolved with pain medication. The same patient developed signs of infection with *Clostridium difficile*. This event was judged to be serious, and required intervention with antibiotic therapy. The patient recovered and continued the prednisolone treatment.

Laboratory parameters did not show clinically relevant changes. Leukocyte and platelet counts were monitored in group A before and after each apheresis session and did not show significant changes. In addition, numbers of leukocytes and platelets were investigated throughout the whole study [Figure 5]. No unexpected changes were observed.

4. Discussion

Apheresis showed similar therapeutic efficacy for induction of steroid-free remission and improvement in mesalazine-refractory UC patients as with prednisolone. Trends were even superior with apheresis. Safety and tolerability were very good. One serious adverse event was reported, *C. difficile* infection under prednisolone. Application of the apheresis was nearly always [$\sim 98\%$] technically feasible.

Despite the promising concept of removal of invading circulating leukocytes, a pivotal sham controlled study failed to prove therapeutic success in active UC.⁶ However, a post hoc analysis found significant effectivity when only patients with histologically proven

invasion of inflammatory cells were analysed.⁷ Appropriate target patients are crucial. Promising effects have been described in mild to moderate UC,^{8,9} a group reflecting our patients.

Current cytopheresis adsorbs mainly granulocytes and monocytes/macrophages. A novel adsorber module as used in our study removes not only monocytes and granulocytes to similar levels, but also platelets,⁶ which may explain its effectiveness.

To conclude, a randomized, controlled trial was performed, comparing novel apheresis as an investigational treatment in comparison to prednisolone in active UC refractory to mesalazine. Outcome assessments indicated similar therapeutic effectivity and favourable safety for apheresis. This proof-of-concept study should stimulate confirmatory trials.

Funding

This work was supported by an unrestricted research grant from NIKKISO Europe GmbH, Germany.

Conflict of Interest

WK served as speaker, consultant and/or advisory board member for Abbvie, Ardeypharm, Falk, Ferring, Genetic Analysis, Gräfe & Unze, Institut Allergosan, Nikkiso, Otsuka, Tillots; JM served as speaker for Falk; AD served as speaker and consultant for Abbvie, Falk, Ferring, MSD, as consultant for Roche/Genentech, Takeda, Mundipharma, Janssen, Hospira, Pfizer, Sandoz/Hexal, Celgene, Tillots, as speaker for Otsuka and Vifor, and received a grant from Institut für Gemeinwohl; AS received consulting fees from AbbVie, Amgen, Astellas, Biogen, Janssen, MSD, Mundipharma, Shield Therapeutics, Summit Therapeutics and Takeda; GP, WR and UD have nothing to disclose.

Acknowledgments

The authors thank the staff from NIKKISO in Germany, particularly Dr Thomas Sicker and Dirk Preine for investing so much of their time and effort in this study. Special thanks go to Fisnike Verlaku (study nurse).

Author Contributions

WK designed the research study, performed the research, analysed the data and wrote the paper. PN, JM, WR, AD and AS performed the research, and critically revised the draft of the article. UD performed central pathology and critically revised the draft of the article. All authors approved the final version of the article, including the authorship list.

References

1. Harbord M, Eliakim R, Bettenworth D, et al. Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2017;11:769–84.
2. Sáez-González E, Moret I, Alvarez-Sotomayor D, et al. Immunological mechanisms of adsorptive cytopheresis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2017;62:1417–25.
3. Saniabadi AR, Tanaka T, Yamamoto T, Kruis W, Sacco R. Granulomonocytapheresis as cell-dependant treatment option for patients with inflammatory bowel disease: concepts and clinical features for better therapeutic outcomes. *J Clin Apher* 2019;34:51–60. doi: 10.1002/jca.21670.
4. Danese S, Motte Cd Cde L, Fiocchi C. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. *Am J Gastroenterol* 2004;99:938–45.
5. Ramlow W, Waitz G, Sparmann G, Prophet H, Bodammer P, Emmrich J. First human application of a novel adsorptive-type cytopheresis module in patients with active ulcerative colitis: a pilot study. *Ther Apher Dial* 2013;17:339–47.

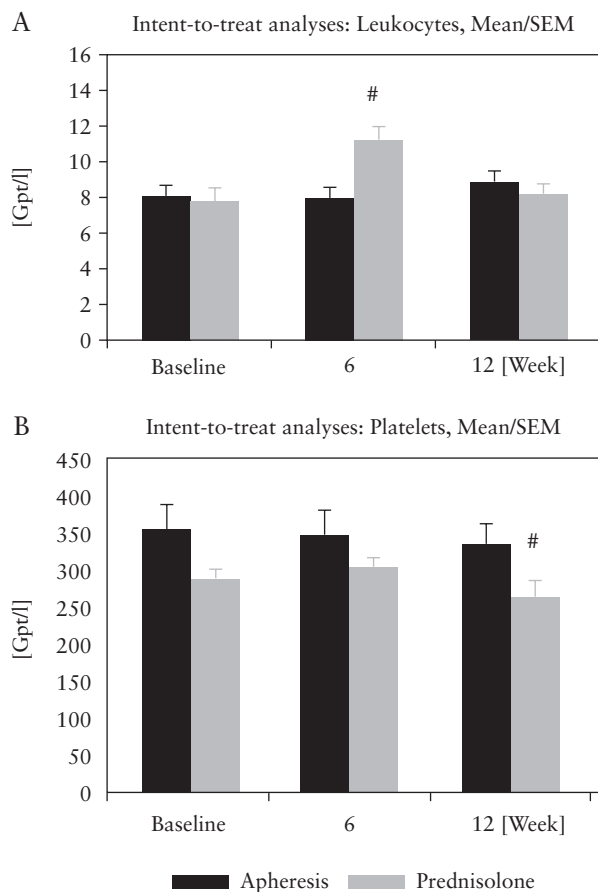


Figure 5. Leukocyte and platelet counts throughout the study.

6. Sands BE, Sandborn WJ, Feagan B, *et al.*; Adacolumn Study Group. A randomized, double-blind, sham-controlled study of granulocyte/monocyte apheresis for active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2008;**135**:400–9.
7. Kruis W, Nguyen P, Morgenstern J. Granulocyte/monocyte adsorptive apheresis in moderate to severe ulcerative colitis—effective or not? *Digestion* 2015;**92**:39–44.
8. Yamamoto T, Iida T, Ikeya K, *et al.* A multicenter retrospective study aiming to identify patients who respond well to adsorptive granulomonocytapheresis in moderately to severely active ulcerative colitis. *Clin Transl Gastroenterol* 2018;**9**:170.
9. De Cassan C, Savarino E, Marson P, *et al.* Granulo-monocyto apheresis is more effective in mild ulcerative colitis than in moderate to severe disease. *World J Gastroenterol* 2014;**20**:17155–62.