

Терапевтический аферез и диализ 2013; **(**):***

ИЦО: 10.1111/1744-9987.12007 © 2013

Авторы

Терапевтический аферез и диализ © 2013 Международное общество афереза

Первое применение на людях нового модульного фильтра-адсорбера для цитафереза у пациентов с язвенным колитом выраженной активности: пилотное исследование

Вольфганг Рамлоу (Wolfgang Ramlow),¹ Грит Вайц (Grit Waitz),² Гизела Спарманн (Gisela Sparmann),² Генрих Профет (Heinrich Prophet),¹ Пегги Бодаммер (Peggy Bodammer)³ и Йорг Эммрих (Jörg Emmrich)^{3*}

Центр афереза Росток,² компания «БиоАртПродуктс ГмбХ» (BioArtProducts GmbH) и ³ Отделение гастроэнтерологии, Ростокский университет, Росток, Германия

Аннотация: Целью этого исследования была оценка безопасности, переносимости, технических характеристик и клинической эффективности нового модульного фильтр-адсорбера для цитафереза у пациентов с язвенным колитом выраженной активности. Выборку составили 10 пациентов с язвенным колитом (индекс клинической активности 6-10). Новый фильтр-адсорбер (производства компании «Никкисо» (Nikkiso), Токио, Япония) был специально разработан для удаления тромбоцитов, гранулоцитов и моноцитов из периферической крови с использованием экстракорпорального кровообращения. Процедуры цитафереза проводились еженедельно в течение пяти недель (продолжительность каждой - 60 минут). Безопасность и переносимость оценивали путем исследования параметров жизненно важных функций, производственных лабораторных анализов, отчетов о побочных эффектах и анкетирования. Активность заболевания оценивали с помощью клинического индекса активности заболевания, а также эндоскопического индекса Рахмилевича. Технические характеристики и биосовместимость были исследованы путём повторных тестов клеточного состава крови, фактора комплемента С3а и маркеров клеточной поверхности до, во время и после процедур афереза. Процедуры цитафереза переносились пациентами «хорошо» или «очень хорошо». Все измеренные параметры безопасности практически не изменились. Данные по эффективности показали, что количество тромбоцитов, моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов эффективно уменьшалось во время цитафереза. Проведение афереза было связано с высокой частотой ремиссии (80% на 10 неделе). Клиническая ремиссия сопровождалась снижением эндоскопического индекса у 4 из 9 подходящих пациентов. Уровни С3а существенно не повышались во время цитафереза. Новое устройство оказалось безопасным, хорошо переносимым и клинически эффективным. Оно обладало высокой биосовместимостью и эффективным удалением тромбоцитов. **Ключевые слова:** адсорбционный аферез гранулоцитов и моноцитов, воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит

Этиология воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) до сих пор полностью не изучена. Основная цель лечения заболевания выраженной активности - достижение и поддержание клинической ремиссии за счёт использования методов лечения с наименьшей вероятностью побочных эффектов.

На сегодняшний день 5-аминосалициловая кислота (5-АСК) и кортикостероиды являются вариантами терапии первого ряда для индукции ремиссии у пациентов с язвенным колитом выраженной активности (ЯК) (1). Кумулятивные высокие дозы или длительное применение стероидов вызывают серьёзные побочные эффекты. Сообщалось также о некоторых случаях резистентности к стероидам. (2).

Многим пациентам проводили колэктомию как последнее средство лечения (3). Адсорбтивный цитаферез был предложен в качестве безстероидного и безопасного метода лечения для достижения ремиссии не только при ВЗК, но и при других иммунологических заболеваниях, таких как ревматоидный артрит и системная красная волчанка (4-6). При сравнении эффективности и безопасности интенсивного адсорбционного афереза гранулоцитов / моноцитов (GMSAP) с интенсивным внутривенным введением преднизолона у пациентов с ЯК тяжёлой формы GMSAP показал лучшие результаты. Более того, реакция на GMSAP была более медленной, но более устойчивой (7).

Несколько рандомизированных контролируемых исследований, проведённых в Японии, продемонстрировали улучшение клинических показателей при лечении аферезом в дополнение к стандартному лечению по сравнению с одним только стандартным лечением (7-9). В отличие от Японии, системы адсорбционного цитафереза в Европе, Северной Америке и большинстве стран мира обычно не

покрываются медицинским страхованием. Это главным образом связано с тем, что стандартное лечение и выбор выходных параметров, использованных в более ранних японских исследованиях (8,10), отличались от европейских и североамериканских стандартов. Более того, два недавних рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических испытания, проведённых в США и европейских странах для доказательства клинической эффективности GMCAP при ЯК (11) и болезни Крона (12), продемонстрировали, что эффективность GMCAP не превосходила имитацию афереза. Таким образом, несмотря на практику Японии, текущие рекомендации гастроэнтерологических обществ США и Европы не рекомендуют GMCAP или лейкоцитаферез (LCAP) для клинической практики. Но анализ подгрупп в рамках исследования Сандса (Sands) и соавт. (11) показал лучший результат для группы GMCAP у пациентов с ЯК в острой стадии, что доказывает важность более критического отбора пациентов в исследованиях афереза.

Поставляемые на рынок системы цитафереза преимущественно удаляют гранулоциты (46%), моноциты/макрофаги (54%) и небольшое количество лимфоцитов (18,5%) и тромбоцитов (19%) (GMCAP) (13) или лимфоцитов (30-60%), тромбоциты (35%) помимо гранулоцитов и моноцитов (почти 100% клеток в кровопроводящей магистрали) (лейкоцитаферез, LCAP) (14). Сообщается, что оба метода эффективны для индукции и поддержания клинической ремиссии у пациентов с ЯК, резистентных к стероидам или ранее не принимавшим их. Они лишь в редких случаях вызывают побочные эффекты (9,15). Более того, нет значительных различий в клинической эффективности и клиническом течении болезни между LCAP и GMCAP (16). Были проанализированы несколько потенциальных методов действия GMCAP и LCAP. Обе системы имеют схожие эффекты, например, снижение количества активированных лейкоцитов, подавление провоспалительных цитокинов и модификацию молекул клеточной адгезии (10,17,18), которые вызывают противовоспалительный статус. Однако точный способ действия этих методов, которые являются промежуточным звеном в достижении терапевтических эффектов, может быть более сложным. Есть несколько доказательств того, что цитаферез вызывает дополнительное воздействие на врожденную иммунную систему и другие регуляторные процессы (18-20).

О прогностических факторах эффективности адсорбционного цитафереза сообщалось редко. Однако в нескольких отчётах указано, что снижение количества тромбоцитов может быть ранним маркёром положительного ответа у пациентов с ЯК в острой форме (21,22). Более того, было признано, что тромбоциты играют важную роль в патофизиологии ВЗК. Число тромбоцитов увеличивается во время обострения ВЗК и коррелируется в зависимости от тяжести заболевания (23). Тромбоциты способны активировать различные клетки, например, за счёт контакта с CD40L, секрецией растворимых CD40L и других хемокинов, способствующих адгезии лейкоцитов и их трансмиграции (24). Таким образом, разработка новых адсорберов тромбоцитов в дополнение к гранулоцитам и моноцитам, представляет собой интересный подход к лечению пациентов с ВЗК.

В этом исследовании был протестирован новый модульный фильтр-адсорбера для цитафереза, наполненный шариками из ионообменной смолы, который, в частности, удаляет тромбоциты, гранулоциты и моноциты из периферической крови. Было проведено проспективное открытое пилотное исследование для оценки безопасности, переносимости, технических характеристик и клинической эффективности этого устройства у пациентов с активным ЯК.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДОЛОГИЯ

Пациенты

Это проспективное исследование было проведено в соответствии с принципом надлежащей клинической практики ISO 14155 и Хельсинкской декларацией. Информированное согласие было получено от всех пациентов после того, как комиссия по этике Ростоцкого университета одобрила протокол исследования. Было выбрано 10 пациентов (6 мужчин и 4 женщины, средний возраст $\pm 47,1$ лет, минимальный возраст ± 25 лет, максимальный возраст ± 73 года) с ЯК высокой и умеренной активности, определяемой индексом клинической активности (CAI 6-10 согласно индексу Рахмилевича [25]). Пациентам не удалось достичь длительной ремиссии при приёме стероидов и/или иммунодепрессантов. У пациентов также были противопоказания или непереносимость высоких доз стероидов и/или иммунодепрессантов. Пациенты, принимавшие преднизолон более 30 мг/день, были исключены из этого исследования.

Средняя продолжительность заболевания составила 14 лет. 60% пациентов, страдающих ЯК выраженной активности, имели левосторонний колит (дистальный колит), а 40% - панколит. В основном, терапевтическое лечение пациентов включало 5-аминосалицилат (5-АСК), азатиоприн (Aza), такролимус и стероиды (таблица 1). Соответственно, 80% пациентов принимали стероиды в средней дозе 8 мг/день. Непосредственно перед началом афереза исследовали повреждение слизистой оболочки с помощью колоноскопии. Согласно Рахмилевичу (25), эндоскопические оценки выставляются эндоскопистом под

микроскопом, не имеющим никакого отношения к этому исследованию, с использованием эндоскопического индекса (EI). Средний EI до начала терапии аферезом составлял $7,4 \pm 5,2$ (диапазон 6-10).

Пациент					CAI	CAI	EI	EI
№	Стать	Возраст	Диагноз†	Лечение	до	Н10	до	Н10
1	М	54	Е2	Стероиды	10	2	6	2
2	М	32	Е2	Стероиды	10	1	6	2
3*	М	44	Е2	5-АСК Стероиды Такролимус	10	8	7	7
4*	М	55	Е2	5-АСК Стероиды	8	(5) [§]	8	10
5	Ж	55	Е3	5-АСК Стероиды	10	0	7	6
6	М	57	Е3	5-АСК Aza	7	0	— [¶]	— [¶]
7	М	72	Е2	Стероиды	7	4	10	8
8	Ж	42	Е2	5-АСК Aza	6	1	7	2
9	Ж	24	Е3	Стероиды	9	4	10	8
10	Ж	28	Е3	5-АСК Такролимус	8	0	6	2

† Монреальская классификация (26)Ж У2Ж левосторонний ЯК (дистальный колит), Е3: ЯК выраженной активности (панколит). [¶]Пациент без ответа. [§]Пациент, принимающий стероиды в дозе 50 мг/день между 6 и 10 неделями после лечения новым устройством. [¶]Пациент, не давший согласия на эндоскопию.

Протокол проведения афереза

Пациенты прошли пять курсов лечения с использованием нового устройства для афереза с интервалом в одну неделю.

ТАБЛИЦА 1. Данные пациентов

Каждый сеанс длился 60 мин и при скорости кровотока 30 мл/мин.

Устройство Immunopure и забор образцов крови

Устройство Immunopure (производства компании «Никкисо» (Nikkiso), Токио, Япония) было разработано для использования для проведения гемоперфузии в обычных условиях через выборочное удаление гранулоцитов, моноцитов/макрофагов и тромбоцитов. Устройство представляет собой стерилизованный гамма-излучением, одноразовый модуль, наполненный шариками из ионообменной смолы диаметром 1,0 мм. Этот материал имеет долгую историю клинического применения в составе диализаторов на основе полисульфоновых полых волокон. Общий объем фильтр-адсорбера - 350 мл. Пустой объем устройства - 139 мл. Система афереза состоит из устройства, магистрали контура (АВТ-002РХ, производства компании «Никкисо» (Nikkiso)) и прибора для измерения потери крови (LPM-01, производства компании «НИККИСО Европа ГмбХ» (Nikkiso Europe GmbH), Ганновер, Германия).

Цитаферез проводили при скорости кровотока 30 мл/мин. в течение 60 мин. Нефракционированный гепарин (компания «Ратиофарм» (Ratiopharm), Ульм, Германия) вводили болюсно (75–150 МЕ/кг массы тела) в начале лечения с последующей непрерывной инфузией 50–100 МЕ/кг в курсе лечения. Кровь забирали из локтевой вены или вены предплечья, пропускали по колонке и вводили обратно в локтевую вену или вену предплечья контралатеральной руки. Образцы крови были взяты при скрининге (на 0 неделе, Н0), промежуточной оценке (на 6 неделе, Н6), окончательной оценке (на 10 неделе, Н10), а также до, во время и в конце каждого сеанса афереза (на протяжении 1- 5 недели, W1-5).

Безопасность, переносимость и биосовместимость

Жизненные показатели оценивались путём записи артериального давления, частоты пульса и температуры тела во время всех посещений. Артериальное давление и частоту пульса измеряли до, через 30 минут, в конце (после ретрансфузии) и через 15 минут после афереза. Температуру тела измеряли до и через 15 мин после афереза. Побочных эффектов зарегистрировано не было. Оценка безопасности основывалась также на лабораторных анализах количества клеток периферической крови, электролитов (Na⁺, K⁺, Ca²⁺), глюкозы в сыворотке, фибриногена, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбина по Квику (протромбинового индекса), международного нормализованного индекса (МНИ), общего белка, креатинкиназы (КК), альбумина, альфа-1-глобулина, альфа-2-глобулина, бета-глобулина и гамма-глобулина, иммуноглобулина класса G, M, A, E, фактора комплемента C3a (сравнения параметров в

начале и по завершении лечения, анализов во время лечения). Кроме того, креатин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), билирубин, С-реактивный белок (СРБ) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) анализировали только в начале всех сеансов (сравнение параметров между сеансами, анализ результатов). Анализы проводились сертифицированной независимой лабораторией.

Переносимость оценивалась для каждого курса афереза (до и после), а также на 6 и 10 неделе с помощью анкеты, которая позволяла пациентам и врачам оценивать лечение в соответствии с заранее определенной схемой (6 уровней, которые варьировались от «очень хорошо» до «очень плохо»).

Клиническая эффективность

Активность заболевания оценивали с помощью индекса САИ (до начала терапии и на 6 и 10 неделе), а также с помощью эндоскопического индекса (до начала терапии и на 10 неделе) и индекса Рахмилевича (25). Клиническая ремиссия при ЯК определялась по шкале САИ 4 или меньше. Клинический ответ определяется как снижение САИ > 3 или САИ < 4. Эндоскопическая ремиссия определяется как EI < 4 (25).

Проточная цитометрия

Антитела против следующих антигенов клеточной мембраны человека были предоставлены компанией «БД Биосаенс» (BD Biosciences) (Сан-Хосе, Калифорния, США): CD3, CD4, CD8, γ/δ Т-клеточный рецептор, HLA-DR, CD10, CD14, CD62L, CD11b, CD42b, CD63. Изотопически сходные нерелевантные антитела против мышиного IgG1 и IgG2a (производства компании «БД Биосаенс» (BD Biosciences)) использовали в качестве отрицательного контроля. Соответствующее количество антител добавляли к 50 мкл объёма циркулирующей крови. Образцы инкубировали в течение 20 мин. при 4°C. Затем добавляли 1 мл 1 x БД ФАКС лизирующий раствор (производства компании «БД Биосаенс» (BD Biosciences)) с последующей 10-минутной инкубацией при комнатной температуре в темноте. Клетки промывали один раз раствором BD CellWash (производства компании «БД Биосаенс» (BD Biosciences)) и сразу же анализировали на проточном цитометре FACS-Calibur (производства компании «БД Биосаенс» (BD Biosciences)). Для оценки объёма периферической крови, абсолютные количества различных популяций клеток были рассчитаны следующим образом: % x количество лейкоцитов/100. Подсчёт был скорректирован на гематокрит. Для окрашивания тромбоцитов периферическую кровь фиксировали в 1% растворе формальдегида/ фосфатно-солевом буферном растворе.

T_{reg} были идентифицированы с использованием набора для внутриклеточного окрашивания (производства компании «еБиосаенс» (eBioscience), Сан-Диего, Калифорния, США). Перед окрашиванием лимфоциты периферической крови выделяли центрифугированием в градиенте Перколла. Подготовленные клетки (1×10⁶) окрашивали смесью CD4 FITC/CD25 APC (по 10 мкл каждая, производства компании «еБиосаенс» (eBioscience)) или контрольными изотипами мышиных IgG1FITC/APC в течение 30 мин. После промывки раствором CellWash клетки инкубировали с 1 мл свежеприготовленного буфера для фиксации/пермеабиллизации (компонент набора) в течение 30 мин при 4°C в темноте. Образцы дважды промывали буферным раствором для пермеабиллизации (компонент набора) и инкубировали в течение 30 мин. с очищенным антителом, меченным фикоэритрином, против человеческого FoxP3 (PCN101) или изотипическим контролем крысиного IgG2a соответственно. Клетки промывали один раз буферным раствором для пермеабиллизации, ресуспендировали в 200 мкл раствора CellWash и анализировали на цитометре. Всего было зарегистрировано 200 000 событий. Данные анализировали с помощью программного обеспечения CellQuest (производства компании «БД Биосаенс» (BD Biosciences)). Клетки дифференцировали на CD4⁺CD25^{high}+FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{intermediate}+FoxP3⁺ T_{regs}.

Статистический анализ

Данные выражены как среднее±стандартное отклонение. Статистический анализ проводился с помощью теста Вилкоксона без параметров. Значения P < 0,05 считались статистически значимыми. Расчеты были выполнены с использованием SPSS версии 15.0 (SPSS, Чикаго, Иллинойс, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Переносимость

С помощью опроса в соответствии с установленными индексом общего самочувствия были получены данные, представленные в Таблице 2. Из них можно сделать вывод, что процедуры афереза показали переносимость от «хорошей» до «очень хорошей». За исключением случайных незначительных головных болей и проблем с пункциями, побочных эффектов не наблюдалось.

Таблица 2. Результаты опроса на переносимость лечения

Пациент №	1 курс	2 курс	3 курс	4 курс	5 курс	Визит 7	Визит 8
1	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо
2	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо
3 [†]	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Fair	Хорошо
4 [†]	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо
5	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо
6	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	хорошо	хорошо
7	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо
8	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	хорошо	Очень хорошо
9	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо	Хорошо
10	Хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо	Хорошо	Очень хорошо	Очень хорошо

[†]Пациент без ответа.

Лабораторные показатели безопасности и основные показатели состояния организма

Все 10 пациентов прошли исследование согласно предложенному протоколу. Лабораторные показатели безопасности между началом и завершением каждого сеанса афереза (во время лечения) и все оцениваемые параметры оставались в пределах нормы, за исключением значительного увеличения значений aPPT из-за антикоагуляции (таблица 3).

Таблица 3. Лабораторные показатели безопасности. Воздействие во время лечения.

Параметр	Показатели эффективности в начале лечения	Показатели эффективности после завершения лечения	Диапазон нормальных значений
Фибриноген (г/л)	4.2± 0.6	4.0± 0.7*	1.4-4.8
aACTB (сек.)	31.5± 6.6	212.1± 30.2*	25-36
Альбумин (г/л)	40.6± 3.0	37.1± 2.4*	35-50
Общий белок (г/л)	72.3± 3.5	66.8± 5.1*	64-83
Альбумин (%)	61.7± 3.7	60.8± 4.2	59.8-72.4
Альфа-1-глобулин (%)	3.3± 0.6	4.4± 3.2	1.0-3.2
Альфа-2-глобулин (%)	11.0± 2.1	11.0± 1.6	7.4-12.6
Бета-глобулин (%)	9.9± 0.6	9.4± 0.8*	7.5-12.9
Гамма-глобулин (%)	14.1± 2.5	14.4± 2.7	8.0-15.8
Иммуноглобулины G (г/л)	10.8± 1.9	9.9± 1.9*	7.0-16.0
Иммуноглобулины M (г/л)	1.4± 0.7	1.3± 0.6*	0.4-2.3
Иммуноглобулины A (г/л)	1.9± 0.9	1.71± 0.7*	0.7-4.0
Суммарные иммуноглобулины E (МЕ/мл)	47.5± 58.0	41± 49.4*	<220
Глюкоза (ммоль/л)	4.9± 1.4	5.2± 1.2	<7.8
K+ (ммоль/л)	4.3± 0.3	4.1± 0.4	3.6-5.4
Ca2+ (ммоль/л)	2.4± 0.1	2.3± 0.1*	2.1-2.55
Na+ (ммоль/л)	138.9± 1.4	138.0± 3.1	134-145
СК (мкмоль/л)	1.5± 1.1	1.3± 0.9*	<3.2

10 пациентов, % альбумина, альфа-1-глобулин, альфа-2-глобулин, бетаглобулин, гамма-глобулин, Суммарные иммуноглобулины E: 10 курсов лечения (1 неделя); фибриноген, иммуноглобулин (Ig), иммуноглобулин G, иммуноглобулин M, иммуноглобулин A, общий белок, СК: 20 курсов лечения (1 и 3 недели); глюкоза, K +, Ca2 +, Na +: 30 курсов лечения (1, 2 и 3 недели); ACTB, альбумин г / л: среднее - 50 курсов лечения (1-5 недели), среднее стандартное отклонение, * P <0,05 по сравнению с 0-минутным значением; критерий Уилкоксона.

В целом у пациентов наблюдалось небольшое повышение уровня альфа-1-глобулина, что, возможно, было связано с воспалительным состоянием (САИ 6-10). Не наблюдалось долговременного воздействия (взаимного воздействия) промежуточных процедур афереза на лабораторные параметры безопасности, за исключением ожидаемых колебаний параметров коагуляции, таких как протромбин по Квику, значения МНИ и aACTB.

Температура тела во время лечения не значительно не изменялась. Частота сердечных сокращений и

артериальное давление были незначительно снижены (частота сердечных сокращений: с 79,7 / мин до 72,6 / мин. после 30-минутного курса лечения, 72,4 / мин. после завершения лечения; среднее артериальное давление: с 103,7 мм рт. ст. до 97,7 мм рт. ст. через 30 мин. после курса лечения, 100,2 мм рт. ст. после завершения лечения), что можно расценивать как положение покоя пациентов после начала лечения. Артериальное давление к концу лечения восстановилось.

Биосовместимость

Значения С3а значительно снизились после 15-минутной обработки в выходной линии устройства по сравнению с 0-минутными значениями. Через 60 минут уровни фактора комплемента С3а существенно не повысились (рис. 1).

Технические характеристики

Технические характеристики устройства оценивались путём расчёта абсолютных показателей сокращения популяций клеток периферической крови, собранных из линий притока и оттока в разное время одного сеанса афереза. Гематокрит был немного снижен после начала лечения (-2%) и до конца из-за эффектов разбавления (количество клеток корректировалось изменениями гематокрита). Количество эритроцитов незначительно увеличилось во время лечения (приток до 100,4%, отток до 100,7% через 15 мин. после лечения; 100,5% - в конце). Общее количество лейкоцитов эффективно снизилось максимум через 30-60 мин. после лечения и восстановилось до 99,6% после лечения. Количество моноцитов (приток до 87,3%, отток до 37,3% через 30 мин. после лечения), нейтрофильных гранулоцитов (приток до 93,8%, отток до 53,2% через 30 мин. после лечения), эозинофилов (приток до 88,4%, отток до 51,5% через 15 мин. после лечения) и тромбоцитов (приток до 98,9%, отток до 20,3% через 15 мин. после лечения) сильно снизились во время лечения. Однако после лечения показатели восстановились до 95%, 99%, 107% и 92% соответственно. Наблюдалось лишь небольшое изменение количества лимфоцитов (приток до 99,4%, отток до 93,8% после 30 мин. лечения, 103,9% в конце; рис. 2). Долгосрочного воздействия афереза на количество клеток периферической крови не наблюдалось, за исключением небольшого (в пределах нормы) снижения гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов между Н3 и Н6, которое полностью восстановилось к 10 неделе.

Изменения поверхностных маркеров клеток

Когда результаты сравнивались до и после каждого афереза, количество CD3 + CD4 + Т-хелперов немного увеличивалось (до 114% через 60 минут), в то время как количество CD3 + CD8 + цитотоксических Т-клеток не изменялось.

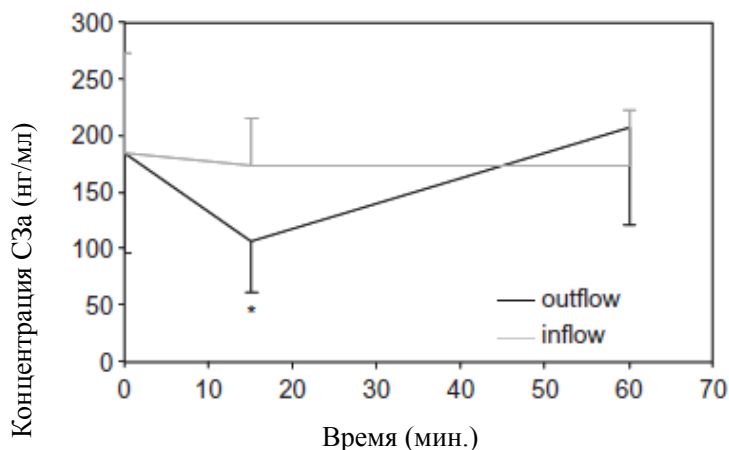
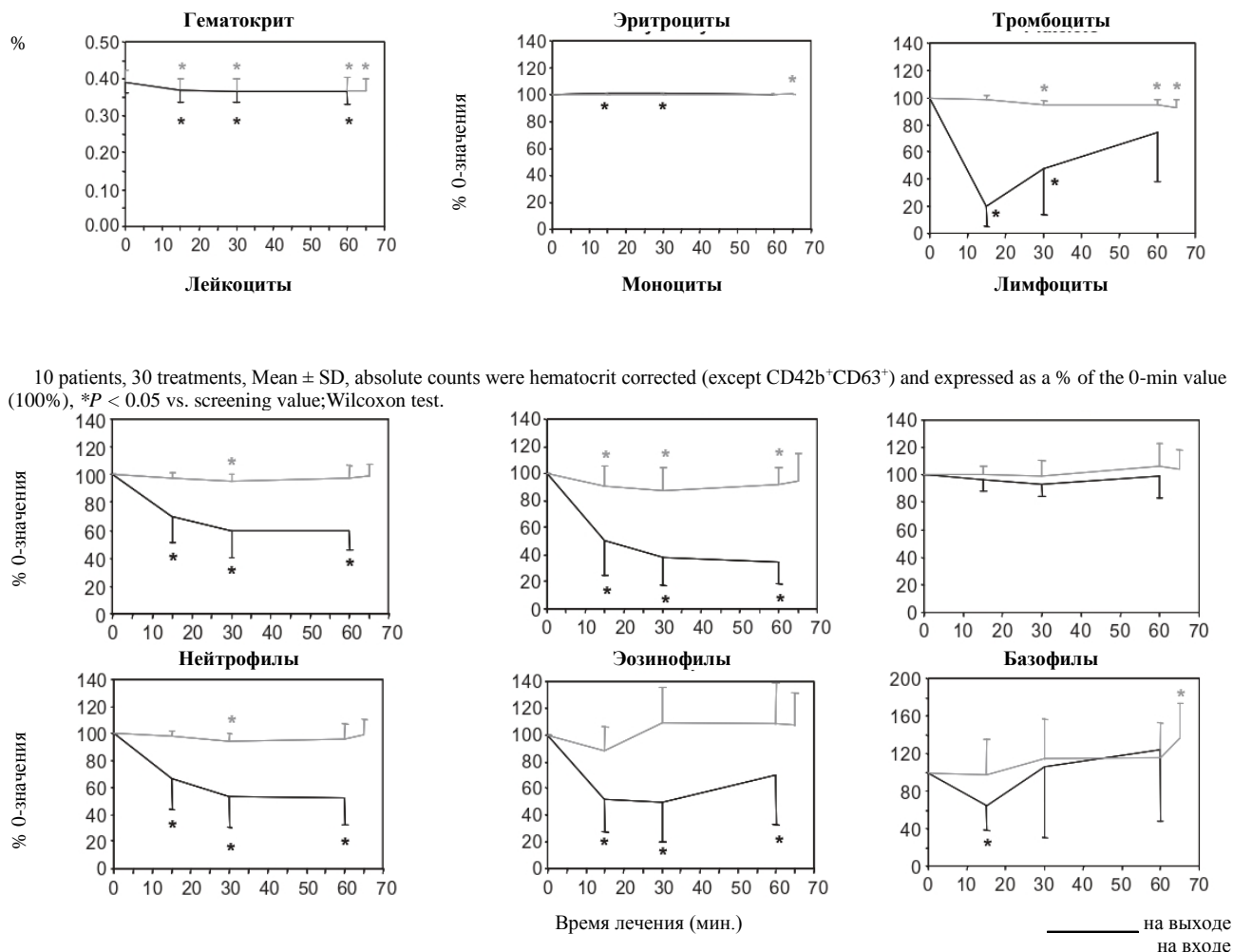


Рис. 1. Изменение фактора комплемента С3а во время афереза. Сравнение начальных (0 мин.) значений с 15- и 60-минутными значениями для одного сеанса лечения (1, 3 и 5 недели; 10 пациентов, 30 процедур, среднее ± стандартное отклонение, * P < 0,05 по сравнению со значением скрининга; критерий Уилкоксона).



10 patients, 30 treatments, Mean \pm SD, absolute counts were hematocrit corrected (except CD42b⁺CD63⁺) and expressed as a % of the 0-min value (100%), * $P < 0.05$ vs. screening value; Wilcoxon test.

Рис. 2. Графики анализа крови - эффект воздействия в курселечения: сравнение начальных (0 минут) значений с 15, 30 и 60-минутными значениями для одного курса лечения (10 пациентов, 50 процедур, среднее значение \pm стандартное отклонение, абсолютные значения выражены как % от нулевого значения [100%])

Количество клеток CD3⁺HLADR⁺ снизилось до 71% после 60 минут оттока, в то время как количество клеток CD4⁺CD25⁺ увеличилось до 118%. Количество Т-клеток, несущих γ/δ Т-клеточный рецептор, снижалось через 60 минут в притоке (до 91%) и оттоке (до 78%). Количество клеток CD4⁺CD25^{high}, CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{interm}FoxP3⁺ значительно снизилось через 60 минут оттока (таблицы 4,5).

Наблюдалось резкое снижение количества CD14⁺ моноцитов и CD10⁺ гранулоцитов во время лечения в оттоке (CD14⁺: до 45% через 60 минут, CD10⁺: до 54% через 60 минут). Скорость восстановления количества клеток CD62⁺ и CD11b⁺ была аналогична скорости восстановления гранулоцитов (CD62L⁺: до 57% после 60 минут в линии оттока; CD11b⁺: до 53% после 60 минут в линии оттока). Аналогично, изменений в этих клетках после 60 минут в линии притока не наблюдалось.

Средний показатель канальной флуоресценции клеток CD62L⁺, который отражает поверхностную экспрессию этого параметра на клетках, немного снизился в притоке через 15 мин. (до 92%) и в оттоке через 60 мин. обработки (до 86%). Средний показатель канальной флуоресценции клеток CD11b⁺ вырос на выходе из колонки только после 60 минут обработки (до 202%). Количество тромбоцитов, активированных CD42b⁺CD63⁺, во время лечения увеличивалось, особенно в линии оттока (таблицы 4,5). Длительного воздействия афереза на различные популяции клеток не наблюдалось.

ТАБЛИЦА 4. Модификация поверхностных маркеров клеток, воздействие во время лечения (W1, W3 и W5)

CD3 ⁺ CD4 ⁺	100.0	\pm 0.0	108.7	\pm 15.4*	107.4	\pm 17.6*	117.8	\pm 17.9*	113.6	\pm 18.1*
CD3 ⁺ CD8 ⁺	100.0	\pm 0.0	100.6	\pm 16.8	96.3	\pm 18.3	100.8	\pm 20.4	100.6	\pm 22.2
CD10 ⁺	100.0	\pm 0.0	102.1	\pm 12.3	66.2	\pm 24.7*	99.6	\pm 28.8	54.1	\pm 20.0*
CD14 ⁺	100.0	\pm 0.0	93.0	\pm 19.0*	48.0	\pm 29.9*	97.2	\pm 37.2	45.3	\pm 36.0*
CD62L ⁺	100.0	\pm 0.0	98.5	\pm 6.2	67.5	\pm 22.2*	98.7	\pm 16.7	57.0	\pm 17.6*
CD62L ⁺ Mean	100.0	\pm 0.0	92.0	\pm 14.9*	94.8	\pm 15.7	108.8	\pm 21.7*	85.6	\pm 21.7*

CD11b ⁺	100.0	± 0.0	96.7	± 5.9*	64.4	± 24.4*	95.4	± 15.3	52.6	± 20.5*
CD11b ⁺ Mean	100.0	± 0.0	108.0	± 43.8	103.8	± 41.9	119.7	± 51.4	202.2	± 84.2*
CD3 ⁺ HLADR ⁺	100.0	± 0.0	97.6	± 33.4	91.9	± 41.4	121.3	± 82.0	71.1	± 32.0*
CD42b ⁺ CD63 ⁺	100.0	± 0.0	117.3	± 107.0	389.2	± 529.1*	194.7	± 182.7*	409.8	± 343.3*
CD3 ⁺ TCRgS ⁺	100.0	± 0.0	113.7	± 105.1	79.9	± 56.6*	90.5	± 59.5*	78.4	± 31.1*

10 пациентов, 30 процедур, среднее ± стандартное отклонение, абсолютные значения гематокрита скорректированы (кроме CD42b⁺CD63⁺) и выражены как% от 0-минутного значения (100%), * P <0,05 по сравнению со скрининговым значением; критерий Уилкоксона.

Клиническая эффективность

На основании определения клинической ремиссии и клинического ответа (ремиссия: САИ<4, ответ: падение САИ>3 или САИ<4), частота ремиссии и ответа отражена в таблице 1. Среднее значение САИ снизилось с 8, ±1,5 (значение экранирования) до 4,5±4,1 на 6 неделе и 2,2±2,7 на 10 неделе (P<0,05). Ремиссия заболевания была достигнута у 8 из 10 пациентов (80%) на 10 неделе.

Клиническая ремиссия сопровождалась снижением эндоскопического индекса (EI <4) у 4 из 9 пациентов (44%), согласившихся на эндоскопическое обследование. Среднее значение EI у 9 подходящих пациентов снизилось с 7,4±1,6 (при скрининге) до 5,2±3,2 на 10 неделе (P <0,05). Хотя у 4 пациентов (44%) наблюдалась клиническая ремиссия в соответствии с улучшением показателей САИ, у 5 пациентов (56%) ремиссии не наблюдалось согласно их эндоскопическим показателям (EI> 4).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Больным язвенным колитом часто назначают высокие дозы кортикостероидов. Цитаферез позволяет избежать побочных эффектов, которые возникают при приёме стероидов, и лечить пациентов, резистентных к ним. Однако такое лечение стоит дорого и его терапевтический успех варьируется у разных пациентов. Следовательно, новые разработанные устройства должны обеспечивать более высокую эффективность и соотношение цены и качества.

Это исследование является первым пилотным испытанием нового модульного фильтра-адсорбера для цитафереза, наполненного шариками из ионообменной смолы, у пациентов с активным ЯК. Исследование продемонстрировало очень хорошую переносимость этого устройства без каких-либо побочных эффектов. Процедуры афереза с использованием нового адсорбера гарантируют высокую степень безопасности. Все измеренные параметры безопасности практически не изменились как во время лечения, так и между курсами. Такие жизненно важные параметры, как артериальное давление, частота сердечных сокращений и температура тела, были практически стабильными во время курсов афереза.

Клинический ответ, полученный в этом исследовании, был обнадеживающим, так как 8 из 10 пациентов достигли ремиссии на 10 неделе. У 4 из 9 пациентов, согласившихся на эндоскопическое обследование, ремиссия САИ сопровождалась улучшением EI. Частота ответа полностью соответствовала данным, указанным в литературе относительно других устройств для адсорбционного цитафереза для пациентов, страдающих язвенным колитом выраженной активности (4,7,27).

ТАБЛИЦА 5. *Анализы T_{regs} с помощью проточной цитометрии, воздействие во время лечения (W1, W3 и W5)*

Параметр	0-мин.	15-мин. приток	15-мин. отток	60-мин. приток	60-мин. отток
CD4 ⁺ CD25 ⁺	100.0 ± 0.0	105.7 ± 17.0	121.1 ± 29.7*	117.6 ± 28.2*	118.2 ± 44.9*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Interm	100.0 ± 0.0	106.5 ± 18.0	122.3 ± 31.5*	118.4 ± 30.0*	124.0 ± 44.0*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ high	100.0 ± 0.0	104.4 ± 29.0	100.9 ± 29.9	97.6 ± 34.1	85.5 ± 34.9*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺	100.0 ± 0.0	104.4 ± 27.0	114.6 ± 36.7	92.8 ± 35.8	83.1 ± 45.5*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ IntermFoxP3 ⁺	100.0 ± 0.0	102.9 ± 33.4	111.7 ± 44.3	93.6 ± 53.1	80.7 ± 59.4*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ highFoxP3 ⁺	100.0 ± 0.0	104.3 ± 26.3	115.8 ± 36.5*	93.7 ± 39.0	76.5 ± 38.4*

10 пациентов, 30 процедур, среднее ± стандартное отклонение,% от 0-минутного значения (100%), * P <0,05 по сравнению со значением скрининга; критерий Уилкоксона.

Во время контакта крови с искусственными поверхностями система комплемента активируется альтернативным путём. Низкая степень активации комплемента является выражением низкого потенциала активации контакта и высокой биосовместимости. Активация системы комплемента гранулами ацетата целлюлозы характеризовалась повышенными уровнями C3a и C5a плазмы в оттоке из колонки, не влияя на клиническую переносимость (13). В этом исследовании устройство показало превосходную биосовместимость, так как концентрации C3a в плазме не были повышены после лечения. Значения C3a значительно снизились после 15 минут обработки в выходной линии устройства по сравнению с 0-минутными значениями, что может быть связано с адсорбцией фрагментов комплемента в адсорбере или на клетках, прикрепленных к колонке. Однако через 60 мин. различия не были значительными.

Эксплуатационные характеристики нового устройства показали, что количество тромбоцитов (80%), моноцитов (66%) и нейтрофильных гранулоцитов (до 47%) значительно уменьшилось в линии оттока во время цитафереза. В конце лечения образцы крови, взятые непосредственно у пациента, показали, что количество гранулоцитов восстановилось, в то время как количество моноцитов и тромбоцитов все ещё продолжало уменьшаться на 5% и 8% соответственно по сравнению с исходными значениями. Возможно, это влияло на общий статус активации этих клеток в организме, даже если он возвращался к исходному уровню после более длительного периода наблюдения, что следует уточнить в дальнейших исследованиях. Показатель лимфоцитов и эритроцитов оставался относительно постоянным. Анализы проточной цитометрии подтвердили эти результаты и показали значительное сокращение количества моноцитов CD14⁺ и гранулоцитов CD10⁺. Таким образом, что касается показателей удаления клеток крови, новое устройство напоминает доступную селективную систему GMCAP на основе ацетата целлюлозы с более высокой способностью удаления тромбоцитов.

Основной целью лечения GMCAP было удаление активированных гранулоцитов и моноцитов из кровотока (28). Однако удаление первичных неиммунных клеток, таких как тромбоциты, также может иметь значение. Активированные тромбоциты участвуют в патогенезе ВЗК, секретируя различные биологически активные молекулы. Более того, они способны взаимодействовать с эндотелием слизистой оболочки и Т-клетками и создавать провоспалительную платформу, способствуя развитию воспалительного процесса (24). Важность этого эффекта подтверждается тем, что снижение количества активированных тромбоцитов сразу после первого LCAP можно считать ранним маркером для прогнозирования клинического ответа на лечение (21,22). В этом исследовании количество CD42b⁺CD63⁺- активированных тромбоцитов увеличивалось во время лечения, особенно в линии оттока. Однако количество тромбоцитов на выходе из колонки было очень низким. Таким образом, эта активация может утратить свою значимость.

Обычно адсорбционный цитаферез характеризуется иммуномодулирующим эффектом, о чем свидетельствуют его благоприятные долгосрочные клинические эффекты у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Ранее обсуждались изменения в профилях клеточной популяции, цитокинового ответа, активации сигнального пути, хоуминга и трансмиграции (29). Наблюдалось повторное уменьшение количества дендритных клеток, которые играют существенную роль в индукции иммунной толерантности (19). Недавние открытия подчеркивают значение регуляторных Т-клеток в объяснении долгосрочных эффектов лечения цитаферезом (20,30). Данные проточной цитометрии в этом исследовании показали небольшое увеличение как CD3⁺CD4⁺ Т-хелперных клеток, так и CD4⁺CD25⁺ клеток, что свидетельствует о незначительной активации или перераспределении Т-клеток, поскольку количество T_{reg}-клеток CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ повышалось только через 15 мин. после лечения, но затем значительно снижалось. Этот результат отличается от исследований с использованием других адсорберов (20,31) и может быть связан с характеристиками устройства. Тем не менее, полученные результаты показывают, что количество CD3⁺HLADR⁺ клеток (Т-клетки, активированные на поздней стадии) и Т-клеток, несущих Т-клеточный рецептор γ/δ , снизилось. Это подтверждает гипотезу о том, что терапия индуцировала противовоспалительный эффект. Анализ рецепторов переноса лейкоцитов CD62L и CD11b показал подавление экспрессии CD62L и повышение экспрессии CD11b. Этот результат также был зарегистрирован и в других исследованиях цитафереза и показал подавление диапедеза (31).

ВЫВОДЫ

В ходе этого пилотного исследования было доказано, что новое полуселективное устройство характеризуется безопасностью, хорошей переносимостью и клинической эффективностью у пациентов с язвенным колитом выраженной активности. Это исследование привело к одобрению использования устройства (маркировка ЕС). Полученные данные указывают на разницу между исследуемым устройством и другими адсорберами, представленными на рынке для более интенсивного удаления тромбоцитов, индукции незначительной активации Т-клеток и очень низкой активации комплемента. Частота ответа (80% ремиссия) в этом предварительном исследовании с небольшим числом пациентов была сопоставима или показала даже лучшие результаты по сравнению с уже известными методами цитафереза. Это положительное влияние на параметры эффективности заслуживает дальнейшей оценки в контролируемых испытаниях и исследованиях по подбору доз с большим числом пациентов.

Благодарность: исследование спонсировалось компанией «Никкисо» (NIKKISO), Токио, Япония. Отдельная благодарность Ане Рамлоу (Anja Ramlow), Аннет Бибер (Annett Bieber), Мануэле Зайдл (Manuela Seidl) и Кате Веддер (Katja Vedder), медперсоналу Центра афереза г. Росток, за отличную техническую поддержку. Стандартные лабораторные параметры оценивались в лаборатории «Д-ра Матик и партнёры» (Dr Matic and Partners) (г. Росток, Германия). Отдельный вклад авторов: В.Р. (WR): план и координация исследования, составление рукописи; Г.В. (GW):

анализ данных, план исследования, составление рукописи; Г.С. (GS): сбор данных, подготовка проб, анализ данных; Х.П. (HP): лечение пациентов; П.Б. (PB): анализ данных; Дж.Е. (JE): план исследования, лечение пациентов; все авторы: рецензирование, редактирование и утверждение окончательной рукописи.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бургер Д. (Burger D), Травис С. (Travis S.) Традиционное лечение воспалительного заболевания кишечника. *Научный журнал «Гастроэнтерология»* 2011;140:1827-37.
2. Доэрти Г.А. (Doherty GA), Шейфец А. С. (Cheifetz AS.) Ведение пациентов с острой формой язвенного колита. *Научный журнал «Экспертный обзор гастроэнтерологии и гепатологии»* 2009;3: 395-405.
3. Сэндборн В. Дж. (Sandborn WJ), Рутгерте П. (Rutgeerts P), Фиган Б. Г. (Feagan BG) и соавт. Сравнение показателей колэктомии после лечения язвенного колита плацебо или инфликсимаб. *Научный журнал «Гастроэнтерология»* 2009;137:1250-60.
4. Эммрих Дж. (Emmrich J), Петерманн С. (Petermann S), Новак Д. (Nowak D) и соавт. Лейкоцитаферез (LCAP) в ведении пациентов с хроническим язвенным колитом выраженной активности - результаты рандомизированного пилотного исследования. *Научный журнал «Болезни пищеварительного тракта и научные исследования»* 2007; 52:2044-53.
5. Умекита К. (Umekita K), Хидака Т. (Hidaka T), Уено С. (Ueno S) и соавт. Лейкоцитаферез (LCAP) и снижение уровня микрочастиц тромбоцитов (MPs), и увеличение уровня микрочастиц MPs гранулоцитов: возможная связь с влиянием LCAP на ревматоидный артрит. *Научный журнал «Современная ревматология»* 2009;19:265-72.
6. Суренсен Х. (Soerensen H), Шнайндвинд-Мюллер Дж. М. (Schneidewind-Mueller JM), Лянг Д. (Lange D) и соавт. Пилотное клиническое исследование цитафереза с использованием колонки Adacolumn у пациентов с системной красной волчанкой. *Научный журнал «Международная ревматология»* 2006;26:409-15.
7. Ханан Х. (Hanai H), Иида Т. (Iida T), Такеучи К. (Takeuchi K) и соавт. Интенсивная адсорбция гранулоцитов и моноцитов по сравнению с внутривенным введением преднизолона у пациентов с тяжелой формой язвенного колита: открытое рандомизированное многоцентровое контролируемое исследование. *Научный журнал «Заболевания органов пищеварения и печени»* 2008;40: 433-40.
8. Симояма Т. (Shimoyama T), Савада К. (Sawada K), Танака Т. (Tanaka T) и соавт. Аферез гранулоцитов и моноцитов с колонкой G-1 в лечении пациентов с язвенным колитом выраженной активности. *Японский научный журнал афереза* 1999;18:117-31.
9. Савада К. (Sawada K), Мутто Т. (Muto T), Симояма Т. (Shimoyama T) и соавт. Многоцентровое рандомизированное контролируемое исследование лечения язвенного колита с помощью лейкоцитафереза. *Научный журнал «Современное фармацевтическое исполнение»* 2003;9:307-21.
10. Савада К. (Sawada K), Охниши К. (Ohnishi K), Косака Т. (Kosaka T) и соавт. Leukocytapheresis with leukocyte removal filter as new therapy for ulcerative colitis. *Ther Apher* 1997;1:207-11.
11. Сандс Б.Е. (Sands BE), Сандборн В. Дж. (Sandborn WJ), Фиган Б. (Feagan B) и соавт.; Исследовательская группа Adacolumn. Рандомизированное двойное слепое плацебо контролируемое исследование афереза гранулоцитов / моноцитов при язвенном колите выраженной активности. *Научный журнал «Гастроэнтерология»* 2008;135:400-9.
12. Сандс Б.Е. (Sands BE), Катц С. (Katz S), Вольф Д. К. (Wolf DC) и соавт. Рандомизированное двойное слепое плацебо контролируемое исследование афереза гранулоцитов/моноцитов при болезни Крона (умеренная и тяжелая формы). *Журнал «ЖКТ»* 2012;ИЦО:10.1136/gutjnl-2011-300995.
13. Рамлоу В. (Ramlow W), Эммрих Дж. (Emmrich J), Аренхольц П. (Ahrenholz P) и соавт. Оценка цитафереза с использованием колонки Adacolumn in vitro и in vivo у здоровых субъектов. *Журнал клинического афереза* 2005;20:72-80.
14. Шибата Х. (Shibata H), Курияма Т. (Kuriyama T), Ямаваки Н. (Yamawaki N.) Фильтр Cellsorba. *Научный журнал «Терапевтический аферез и диализ»* 2003;7:44-7.
15. Люнг Т. (Ljung T), Томсен О.О. (Thomsen OO), Ватн М. (Vatn M) и соавт. Аферез гранулоцитов, моноцитов/макрофагов при воспалительном заболевании кишечника: первые 100 пациентов, прошедших лечение в Скандинавии. *Скандинавский журнал гастроэнтерологии* 2007;42:221-7.
16. Саката И. (Sakata Y), Ивакири Р. (Iwakiri R), Амемори С. (Amemori S) и соавт. Сравнение эффективности адсорбтивного афереза гранулоцитов и моноцитов/макрофагов и лейкоцитафереза у пациентов с язвенным колитом выраженной активности: проспективное рандомизированное исследование. *Европейский журнал гастроэнтерологии и гепатологии* 2008;20:629-33.
17. Андох А. (Andoh A), Огава А. (Ogawa A), Китакура К. (Kitamura K) и соавт. Подавление воспалительных реакций, вызванных интерлейкином-1бета и фактором некроза опухоли альфа, с помощью лейкоцитафереза у пациентов с язвенным колитом. *Научный журнал «Гастроэнтерология»* 2004;39:1150-7.
18. Кашиваги Н. (Kashivagi N), Сугимура К. (Sugimura K), Койвай Х. (Koiwai H) и соавт. Иммуномодулирующие эффекты адсорбционного афереза гранулоцитов и моноцитов в лечении пациентов с язвенным колитом. *Научный журнал «Болезни пищеварительного тракта и научные исследования»* 2002;47:1334-41.
19. Вайц Г. (Waitz G), Петерманн С. (Petermann S), Лиеб С. (Liebe S), Эммрих Дж. (Emmrich J), Рамлоу В. (Ramlow W.) Уменьшение дендритных клеток с помощью адсорбционного афереза гранулоцитов и моноцитов у пациентов с язвенным колитом. *Научный журнал «Болезни пищеварительного тракта и научные исследования»* 2008;53:2507-15.
20. Ёкояма Ю. (Yokooyama Y), Фукунага К. (Fukunaga K), Фукуда Ю. (Fukuda Y) и соавт. Демонстрация низкорегуляторных субпопуляций CD25^{High}CD4⁺ и CD28-CD4⁺ с высоким уровнем провоспалительных Т-клеток у пациентов с язвенным колитом, модифицированных с помощью селективного афереза адсорбции гранулоцитов и моноцитов. *Научный журнал «Болезни пищеварительного тракта и научные исследования»* 2007;52:2725-31.
21. Такемото К. (Takemoto K), Курияма М. (Kuriyama M), Като Дж. (Kato J) и соавт. Коэффициент уменьшения тромбоцитов как ранний прогностический фактор эффективности лейкоцитафереза у пациентов с язвенным колитом. *Научный журнал «Терапевтический аферез и диализ»* 2009;13:6-13.
22. Фукунага К. (Fukunaga K), Фукуда Ё. (Fukuda Y), Ёкояма Ю. (Yokooyama Y) и соавт. Активированные тромбоциты как возможный ранний маркер в прогнозировании клинической эффективности лейкоцитафереза у пациентов с тяжелой формой язвенного колита. *Научный журнал «Гастроэнтерология»* 2006;41:524-32.
23. Харрис А. Д. (Harries AD), Фитцсимонс Е. (Fitzsimons E), Файфилд Р. (Fifield R), Дью М. Дж. (Dew MJ), Роудс Дж. (Rhoades J.) Количество тромбоцитов: простой способ измерения активности при болезни Крона. *Британский медицинский журнал* 1983;286:1476.
24. Данезе С. (Danese S.) Воспаление и микроциркуляция слизистой оболочки при воспалительном заболевании кишечника: приток и отток. *Научный журнал «Общепринятое мнение в гастроэнтерологии»* 2007;23:384-9.
25. Индекс Рахмилевича в интересах международной исследовательской группы. Месалазин с покрытием (5-аминосалициловая кислота) в сравнении с сульфасалазином при лечении язвенного колита выраженной активности. *Британский медицинский журнал* 1989;298:82-6.
26. Сатсанги Дж. (Satsangi J), Сильверберг М. С. (Silverberg MS), Вермейер С. (Vermeire S), Полковник Дж. Ф. (Colombel JF.) Монреальская классификация воспалительных заболеваний кишечника: разногласия, консенсус и последствия. *Научный журнал «ЖКТ»* 2006;55:749-53.

27. Савада К. (Sawada K), Кусугами К. (Kusugami K), Сузуки Й. (Suzuki Y) и соавт. Лейкоцитаферез при язвенном колите: результаты перспективного исследования с помощью плацебо с двойной анонимной выборкой методом случай-контроля с имитационным аферезом в качестве плацебо-терапии. *Американский научный журнал «Гастроэнтерология»* 2005;100:1362-9.
28. Канаи Т. (Kanai T), Хиби Т. (Hibi T), Ватанабэ М. (Watanabe M.) Методология лейкоцитафереза как естественной биологической терапии воспалительного заболевания кишечника. *Журнал «Мнение эксперта по биологической терапии»* 2006;6:453-66.
29. Абреу М. Т. (Abreu MT), Плеви С. (Plevy S), Сандс Б.Е. (Sands BE), Вайнштайн Р. (Weinstein R.) Селективный аферез лейкоцитов для лечения воспалительного заболевания кишечника. *Журнал клинической гастроэнтерологии* 2007;41:874-88.
30. Куадро Э. (Cuadrado E), доктор медицины Алонсо М. де Хуан (Alonso M de Juan), Эчаниз П. (Echaniz P), Арнас Т. И. (Arenas JI.) Т-регуляторные клетки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, проходящих гранулоцитаферез с использованием колонки adacolumn. *Всемирный научный журнал «Гастроэнтерология»* 2008;14:1521-7.
31. Саниабади А. Р. (Saniabadi AR), Ханай Х. (Hanai H), Сузуки Ю. (Suzuki Y) и соавт. Adacolumn для селективного лейкоцитафереза как немедикаментозное лечение пациентов с нарушениями иммунной системы: дополнение или альтернатива к лекарственной терапии? *Журнал клинического афереза* 2005; 20:171-84.