

IN DEPTH REVIEW

Il rituximab nella terapia delle glomerulonefriti primitive e secondarie



Monica Insalaco¹, Luca Zanolì², Pasquale Fatuzzo², Fulvio Fiorini³, Antonio Granata¹

(1) UOC Nefrologia e Dialisi, P.O. "San Giovanni di Dio", Agrigento, Italia

(2) Dip. di Medicina Interna, Scuola di Specializzazione in Nefrologia, Univ. di Catania, AOU "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania, Italia

(3) UOC Nefrologia - Dialisi e Dietologia, Ospedale "SM della Misericordia", Rovigo, Italia

Corrispondenza a: Antonio Granata; UOC Nefrologia e Dialisi, P.O. "San Giovanni di Dio", Agrigento, Italia; Tel:+39 0922442292 Fax:+39 0922442238 Mail: antonio.granata4@tin.it

Abstract

Le glomerulonefriti costituiscono un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da "infiammazione glomerulare", hanno una patogenesi immunomediata e possono essere primitive o secondarie. L'approccio terapeutico rimane ad oggi una sfida per il nefrologo, considerati i severi effetti collaterali dei farmaci immunosoppressori classicamente utilizzati: Corticosteroidi, agenti citotossici come la Ciclofosfamide, inibitori della calcineurina ovvero Ciclosporina e Tacrolimus, Azatioprina, Micofenolato Mofetile. Numerosi sono stati gli studi volti a comprendere meglio la patogenesi di queste condizioni morbose, al fine di individuare nuove terapie meno tossiche. È stato visto che diversi meccanismi coinvolgono, direttamente o indirettamente, i linfociti B nella patogenesi delle glomerulonefriti, per cui sempre più l'attenzione del nefrologo si è rivolta ai farmaci che agiscono a questo livello, tra i quali gli anticorpi chimerici monoclonali ed il Rituximab. Esso agisce legandosi al recettore CD20 espresso sulla superficie dei linfociti B, inducendone l'apoptosi e causandone una deplezione persistente per 6-9 mesi. Considerato che le cellule B contribuiscono alla risposta immune con diversi meccanismi, ovvero maturando in plasmacellule con produzione di anticorpi, processando e presentando l'antigene ai linfociti T e contribuendo alla produzione di diverse citochine, si comprende la potenziale efficacia di questo farmaco nelle glomerulonefriti primitive e secondarie. Sebbene l'uso del Rituximab sia stato approvato unicamente nella terapia di induzione delle vasculiti ANCA-associate, diverse sono le glomerulonefriti in cui è stato sperimentato con successo. In questa review ci siamo prefissi l'obiettivo di valutare l'utilizzo del Rituximab in queste patologie, ponendo l'attenzione sui risultati dei più recenti trials clinici.

Parole chiave: glomerulonefriti primitive, glomerulonefriti secondarie, rituximab, sindrome nefrosica idiopatica, vasculiti

Use of rituximab in primary and secondary glomerulonephritis

Primary and secondary glomerulonephritis are a heterogeneous group of disorders characterized by "glomerular inflammation" with an immune-mediated pathogenesis. Considering the severe side effects of the immunosuppressive drugs, the therapeutic approach remains a challenge for the nephrologists. Corticosteroids, cytotoxic agents such as cyclophosphamide, or calcineurin inhibitors such as cyclosporine and tacrolimus, azathioprine and mycophenolate mofetil can all be used for the treatment of glomerulonephritis. Several studies have been published to better understand the pathogenesis of these diseases and to identify the drugs with lower toxicity. Different mechanisms involve, directly or indirectly, the B cells in the pathogenesis of glomerulonephritis. For this reason, the attention of the nephro-

ogists has been focused on the identification of drugs that act at this level, such as chimeric monoclonal antibodies. Rituximab, binding to the CD20 receptor expressed on the surface of B cells, induces their apoptosis and persistent depletion for 6-9 months. B cells contribute to the immune response by the maturation into plasma cells with consequent antibody production, the processing and presentation of the antigen to T cells and the production of various cytokines. For these reasons, the potential role of these drugs in the treatment of primitives and secondary glomerulonephritis is clear. In this review, we aimed to evaluate the use of rituximab in the treatment of these diseases, by focusing on the results of the most recent clinical trials.

Key words: idiopathic nephrotic syndrome

Introduzione

Nonostante siano trascorsi 50 anni dalla prima dimostrazione che gli anticorpi possano colpire le cellule tumorali [1] (full text) e più di 25 anni dalla messa a punto, ad opera di Kohler e Milstein, della tecnica di produzione di anticorpi monoclonali [2], solo in anni recenti l'immunoterapia passiva è diventata parte integrante delle nuove strategie terapeutiche adottate in campo onco-ematologico.

Il salto di qualità è stato reso possibile, in primo luogo, da una migliore caratterizzazione delle neoplasie ematologiche (in particolare linfoidi), con l'identificazione di diversi potenziali bersagli di trattamento; in secondo luogo, un importante contributo è stato dato dall'introduzione degli anticorpi chimerici/umanizzati.

I primi anticorpi monoclonali erano, infatti, proteine xenogeniche di origine murina, altamente immunogene e capaci di determinare, nel ricevente, la produzione di anticorpi antimurini in grado di alterare la farmacocinetica dell'anticorpo monoclonale inducendone la clearance e impedendo di ritrattare il paziente.

Il rituximab (nome commerciale Rrituxan® negli USA e, Mabthera® un Europa) è stato il primo anticorpo monoclonale approvato nel 1997 dalla Food and Drug Administration (FDA) per il trattamento dei linfomi non Hodgkin (LNH) a cellule B resistenti alla chemioterapia convenzionale [3]. Dalla sua immissione in commercio questo farmaco è stato impiegato in circa un milione di pazienti con LNH. Nel 2006 è stato approvato il suo impiego nel trattamento dell'artrite reumatoide non responsiva agli agenti bloccanti il TNF; nel 2011 la FDA ne ha esteso l'indicazione al trattamento delle vasculiti ANCA-associate, in particolare la poliangerite granulomatosa (GPA) e la poliangerite microscopica (MPA) [4]. Ma il suo utilizzo "off-label" [5] si estende oggi a diverse patologie renali, tra cui la glomerulonefrite membranosa (MN), la glomerulonefrite a lesioni minime (MCD), la glomerulosclerosi focale e segmentale (FSGS) e la nefrite lupica (LN). Le tradizionali terapie immunosoppressive utilizzate nelle glomerulonefriti includono, infatti, fin dal 1950 farmaci quali i corticosteroidi e agenti citotossici come la ciclofosfamida, responsabili di severi eventi avversi tra cui sepsi, neoplasie, infertilità. Al fine di migliorarne la tollerabilità ed individuare nuove terapie più specifiche e meno tossiche, negli ultimi anni sono stati condotti diversi studi, sia su modelli animali che su pazienti [6]. Poiché i linfociti B contribuiscono alla patogenesi delle glomerulonefriti con numerosi meccanismi, l'antigene CD20 espresso sulla superficie delle cellule B è stato individuato come un potenziale target terapeutico nel trattamento di queste patologie.

Lo scopo della presente review è quello di presentare le più recenti evidenze circa l'utilizzo del Rituximab nel trattamento delle glomerulonefriti primitive e secondarie.

Rituximab: meccanismo d'azione

Il Rituximab (RTX) è un anticorpo monoclonale chimerico anti CD20, ottenuto con tecniche di ingegneria genetica, contenente catene leggere e pesanti murine nella regione variabile e IgG₁ umane nella regione costante [7]. Il target del farmaco è l'antigene CD20, una fosfo-proteina non glicosilata transmembrana di 33-36 kDa espressa sulla superficie dei linfociti B in tutti gli stadi di maturazione, dalle cellule pre-B alle cellule B mature e sulla superficie cellulare di oltre l'85-90% dei LNH a cellule B. Tale antigene non è, invece, espresso sulla superficie delle cellule allo stadio precoce pro-B, sulle plasmacellule, nei tessuti normali e sulle cellule staminali ematopoietiche [8]. Nell'uomo il CD20 è codificato dal gene MS4A1.

L'antigene CD20 svolge un ruolo fondamentale nella differenziazione e proliferazione delle cellule B attraverso il controllo del flusso di ioni calcio [9] e rappresenta un target ideale per l'immunoterapia oltre che per il suo particolare pattern di espressione sulle cellule B, anche perché non viene internalizzato né modificato a seguito del suo legame con l'anticorpo e non è riscontrabile in forma solubile nel circolo sanguigno.

Il rituximab si lega all'antigene CD20 inducendo una deplezione delle cellule B CD20⁺ che persiste per 6-9 mesi attraverso almeno tre meccanismi d'azione [10]:

- Citotossicità mediata dall'attivazione del complemento (CDC), attraverso il legame con la frazione C1q;
- Citotossicità cellulare anticorpo-mediata (ADCC), mediata dai recettori Fc espressi sulla superficie di granulociti, macrofagi e cellule "natural killer";
- Induzione di apoptosi delle cellule B attraverso l'attivazione della cascata delle caspasi e la successiva fagocitosi dei corpi apoptotici ad opera di cellule dendritiche.

Si ipotizza, infine, che il rituximab possa anche avere un effetto sui linfociti T poiché, inibendo l'attivazione dei linfociti B, interferisce con il meccanismo di processazione dell'antigene per i linfociti T, con ridotta proliferazione, risposta alle cellule dendritiche e secrezione di citochine infiammatorie quali l'IFN-gamma o l'IL-2, processo che normalmente coinvolge i linfociti T CD4⁺ e CD8⁺ [10].

Al momento non è stato ancora evidenziato quale sia, in vivo, il meccanismo dominante né si hanno dati precisi sui meccanismi di resistenza all'anticorpo monoclonale. Alcuni studi hanno sottolineato l'importanza dei livelli di espressione del CD20 e dell'espressione di proteine regolatorie del complemento, quali il CD55, il CD59 ed il CD46, la cui sovraespressione sulle cellule bersaglio interferisce con la CDC [7]. Altri hanno, invece, messo in luce il ruolo dei polimorfismi nei recettori Fc, quale possibile causa della variabilità interindividuale nella risposta ADCC [11].

Rituximab: tossicità e dose

Negli ultimi 15 anni più di mezzo milione di persone nel mondo è stato trattato con rituximab, e nella maggior parte di essi il trattamento si è dimostrato sicuro e ben tollerato [12] ([full text](#)).

Uno degli eventi avversi associato alla somministrazione di questo farmaco è la reazione da infusione, con febbre, brividi, rush cutaneo, edema soprattutto a mani, piedi e volto, ipotensione e broncospasmo. Questo tipo di reazione ha, in genere, un'entità lieve-moderata, si manifesta nel corso della prima infusione, dopo 30 minuti/2 ore, ed è meno frequente nelle infusioni successive [13] ([full text](#)). In questi casi è necessario rallentare la velocità di infusione o sospenderla. Sono, invece, riportate molto raramente in letteratura le severe

reazioni mucocutanee e le reazioni da infusione fatali, con insufficienza respiratoria acuta, ischemia miocardica o aritmie [14] (full text). Al fine di ridurre il rischio di reazioni da infusione, può essere utile la premedicazione circa 30 minuti prima dell'infusione del rituximab, con paracetamolo, antistaminici e steroidi.

Diversi studi hanno riportato come il rituximab causi direttamente una deplezione delle cellule B ed indirettamente una ridotta attivazione di linfociti T e ridotta secrezione di diverse citochine, tra cui IL-1, IL-5, IL-6, TNF- α , TNF- β , INF- α e INF- β . La deplezione dei linfociti B è, anche, associata ad una riduzione dei livelli del GM-CSF (fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi) e ad un incremento dei livelli di BAFF (fattore di attivazione dei linfociti B) e del fattore 1 derivato dallo stroma (SDF-1) con stimolazione nel midollo della linfopoiesi rispetto alla granulopoiesi e conseguente neutropenia [15]. Questi meccanismi contribuiscono ad incrementare la suscettibilità alle infezioni che, in genere, sono lievi e si osservano precocemente in più del 50% dei pazienti trattati. Si tratta prevalentemente di infezioni delle alte vie respiratorie e di infezioni virali come l'herpes zoster o l'influenza. Infezioni da riattivazione di virus latenti, come il CMV, virus dell'epatite B e virus JC sono più gravi ma si manifestano più raramente [12] (full text). In particolare la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) è una severa complicanza conseguente all'infezione o riattivazione del virus JC che porta ad una demielinizzazione letale del SNC. In un articolo del 2011 [16] (full text) sull'impiego del rituximab nelle vasculiti ANCA-associate è stato evidenziato come solo la metà dei 12 casi di PML segnalati tra i pazienti con vasculiti ANCA-associate fosse stato trattato con rituximab. Carson et al. [17] (full text), inoltre, tra tutti i pazienti trattati con rituximab tra il 1997 ed il 2008, ha riportato solo 57 casi, molti dei quali presentavano dei sottostanti fattori di rischio per lo sviluppo di PML, tra cui patologie linfoproliferative ed il contemporaneo trattamento con altri farmaci immunosoppressori. Questi dati suggeriscono come la PML non sia una complicanza specifica del rituximab, ma piuttosto la conseguenza dell'immunosoppressione a cui vengono sottoposti per anni pazienti affetti da patologie autoimmuni, come il LES o le vasculiti ANCA-associate.

Una ormai rara complicanza, che comunque non altera la risposta al farmaco, è costituita dalla formazione di anticorpi umani anti-chimerici, rivolti contro la componente murina del rituximab [12] (full text). Gli effetti a lungo termine non sono ancora noti. Da diversi lavori [18] [19] è emerso un ruolo del rituximab nell'indurre patologie polmonari, aterogenesi con conseguenti eventi cardiovascolari e neoplasie.

Per questo, prima di iniziare la terapia con rituximab, è necessario eseguire una buona anamnesi del paziente per escludere neoplasie o patologie neurologiche in atto, l'esame obiettivo, esami ematochimici, tra cui in particolare l'emocromo, l'assetto lipidico, la valutazione di una pregressa o attiva infezione tubercolare ed i markers virali (CMV, HBV, HCV e HIV), ed una radiografia del torace [13] (full text) [15]. È, infine, fondamentale la tipizzazione linfocitaria per monitorare i livelli dei linfociti CD20 e CD19 e delle immunoglobuline.

I protocolli di somministrazione del rituximab sono fondamentalmente due:

1. Il protocollo usato nell'artrite reumatoide [13] (full text) prevede l'infusione endovenosa di 1 gr al giorno 1 ed al giorno 15 di trattamento in combinazione con metotrexate e la premedicazione con metilprednisolone 100 mg 30 minuti prima di ogni infusione. Successivamente il rituximab può essere somministrato ogni 24 settimane e, se necessario, può essere ripetuto ma non prima che siano trascorse almeno 16 settimane.
2. Nelle vasculiti ANCA-associate [20] (full text) si ricorre, invece, prevalentemente al protocollo usato nel trattamento dei LNH, ovvero infusione endovenosa di 375 mg/m²

di superficie corporea una volta a settimana per 4 settimane, in combinazione con metilprednisolone endovena per 3 giorni consecutivi seguito da prednisone per via orale.

Rituximab: impiego nelle glomerulopatie primitive

Glomerulonefrite Membranosa Idiopatica

La Nefropatia Membranosa (MN) rappresenta la più comune causa di sindrome nefrosica nella popolazione caucasica adulta, con un'incidenza nei paesi del nord Europa di 5-10 casi per milione di abitanti l'anno [21] (full text). In circa un terzo dei casi la MN è definita secondaria e si è in grado di riconoscere una causa sottostante, come una neoplasia solida o ematologica, un'infezione, una patologia sistemica autoimmune o l'azione di farmaci. Nel restante 70% dei casi si ha, invece, una MN primitiva o idiopatica (iMN) che spesso si presenta all'esordio con sindrome nefrosica e normale funzione renale. Un terzo di questi pazienti evolve verso una remissione spontanea, un terzo presenta proteinuria persistente ed un terzo evolve verso l'uremia terminale (ESRD) [6] [22]. Tale patologia, descritta per la prima volta da David Jones nel 1957, è caratterizzata da depositi sottoepiteliali di IgG e complemento, con alterazione dell'architettura glomerulare e proteinuria. Il primo ad elaborare un modello patogenetico fu Heymann nel 1959 con un modello murino di nefropatia membranosa scatenata da anticorpi circolanti diretti contro i podociti, ottenuto iniettando nei ratti un preparato antigenico di cellule tubulari prossimali [3]. Ma la svolta nella comprensione della patogenesi della iMN è correlata all'identificazione ad opera di Beck et al. nel 2009 del recettore PLA₂R, un antigene di derivazione podocitaria presente in circolo nel 70% dei pazienti affetti da iMN [23] (full text). Gli anticorpi anti- PLA₂R hanno un'alta sensibilità e specificità ed il loro titolo in circolo correla con l'attività della patologia definita dalla proteinuria [3]. Il dosaggio in circolo di questi anticorpi, insieme alla proteinuria, permette di valutare in maniera più precisa il grado di attività della patologia e la possibilità di una remissione clinica. Quale sia il migliore trattamento per la iMN è ancora oggi oggetto di forte dibattito. L'obiettivo della terapia consiste nel prevenire o trattare le complicanze della sindrome nefrosica e nel prevenire il deterioramento della funzione renale, limitando per quanto possibile gli effetti avversi dei farmaci immunosoppressori [22]. Il primo approccio consiste nella terapia conservativa con ACE-inibitori e sartani, che possono garantire un miglioramento della proteinuria e delle manifestazioni cliniche della sindrome nefrosica [24]. Le linee guida K-DIGO del 2012 consigliano di ricorrere alla terapia immunosoppressiva solo nei pazienti ad alto rischio di evoluzione verso l'uremia terminale, di utilizzare come terapia di prima scelta gli agenti alchilanti associati alla terapia steroidea per 6 mesi, secondo lo schema Ponticelli, e di relegare a terapia di seconda scelta gli inibitori della calcineurina, associati a nefrotossicità e ad un'alta incidenza di ricaduta dopo la sospensione. Le K-DIGO non si occupano, invece, della terapia con farmaci alternativi e potenzialmente meno tossici, come il rituximab [25]. Considerato, tuttavia, che si tratta di una patologia autoimmune indotta da anticorpi, esiste un razionale nell'utilizzo del rituximab, come indicato in diversi studi.

Nel 2000 Remuzzi et al. per primo ha descritto l'utilizzo del rituximab come terapia di prima scelta. Da allora questo gruppo ha trattato tutti i pazienti con biopsia diagnostica per iMN, clearance della creatinina >20 ml/min/1.73m² e proteinuria >3.5 mg/24 h (nonostante 6 mesi di terapia conservativa) con RTX alla dose di 375 mg/m² una volta a settimana per 4 settimane; successivamente veniva somministrata una singola dose di 375 mg/m² solo se i livelli circolanti di linfociti B dopo il primo ciclo completo erano >5 cell/mm³. Durante un follow-up medio di 29 mesi, 65 pazienti hanno raggiunto una remissione completa (protei-

nuria 24 h <0.3 gr e riduzione >50% rispetto ai valori basali) o parziale (proteinuria 24 h <3 gr e riduzione >50% rispetto ai valori basali). Tra questi, 18 pazienti hanno avuto una ricaduta e in 11 di questi hanno risposto ad un ulteriore trattamento con il rituximab [26] (full text).

Nel 2002, Ruggenti et al. ha condotto uno studio della durata di un anno, in cui 8 pazienti sono stati trattati con una dose settimanale di 375 mg/m² di RTX per 4 settimane con riduzione della proteinuria ad un anno da 8.6 a 3 gr/24h, senza eventi avversi severi, e con una funzione renale stabile [27] (full text).

Nel 2008 Fervenza et al. ha condotto uno studio su 15 pazienti con iMN e proteinuria non responsiva alla terapia conservativa, trattati con una dose di 1 gr somministrato al giorno 1 ed al giorno 15. La somministrazione veniva ripetuta se dopo 6 mesi la proteinuria era >3 gr/24h e se i linfociti B erano $\geq 15/\mu\text{l}$. Il 57% dei pazienti dopo 1 anno aveva raggiunto una remissione completa o parziale; 5 pazienti non avevano risposto e 2 erano evoluti verso l'uremia terminale. Questo studio ha evidenziato la mancanza di una risposta uniforme al trattamento e la necessità di identificare dei fattori predittivi di risposta, considerato che non vi era correlazione tra la risposta al farmaco ed il numero di linfociti CD19⁺, la proporzione di linfociti CD20⁺ alla biopsia renale, la funzione renale iniziale, la proteinuria e la fibrosi tubulo-interstiziale. Dagli studi di farmacocinetica e farmacodinamica effettuati era emerso come la dose di 1 gr somministrata due volte a distanza di 15 giorni indipendentemente dal peso del paziente, potesse essere sottodosata [28]. Nel 2010, Fervenza et al. ha tentato di far fronte a questo limite studiando una piccola coorte di pazienti monitorati per 2 anni. Sono stati inclusi i pazienti con biopsia renale diagnostica per iMN, con clearance della creatinina >30 ml/min/1.73 m² e con proteinuria persistentemente >5 gr/24h nonostante 4 mesi di terapia conservativa. I pazienti venivano trattati con 375 mg/m² di rituximab una volta la settimana per 4 settimane, ripetuto dopo 6 mesi indipendentemente dalla risposta clinica. Un totale di 18 pazienti hanno completato il follow-up di 2 anni. Tra questi, 4 sono andati incontro a remissione completa e 12 a remissione parziale. Questo regime terapeutico sembrava indurre una maggiore deplezione dei linfociti B, sebbene la riduzione della proteinuria fosse simile a quella dello studio precedente; c'era, inoltre, una minore incidenza di anticorpi umani anti-chimerici [29] (full text). Dai risultati di questi studi sembra emergere che possa esserci una differente risposta nella deplezione delle linfociti B dopo infusione di rituximab.

Beck et al., inoltre, ha evidenziato la capacità degli anticorpi anti-PLA₂R di predire e monitorare la risposta della patologia al trattamento in 35 pazienti trattati con RTX per iMN. All'inizio dello studio gli Ab anti- PLA₂R erano presenti nel 71% dei pazienti, nel 68% dei quali si erano ridotti dopo 12 mesi di terapia. I pazienti nei quali era stato evidenziato il calo degli anticorpi a 12 mesi, andavano incontro a remissione dopo 24 mesi, suggerendo che la riduzione degli anticorpi preceda il declino della proteinuria e sottolineando l'utilità del monitoraggio del titolo anticorpale per predire la risposta del paziente al rituximab. È interessante, inoltre, evidenziare come secondo questo studio non sembrano esserci differenze nella progressiva riduzione degli anticorpi anti- PLA₂R tra i due protocolli prevalentemente utilizzati, ovvero una dose settimanale di 375 mg/m² per 4 settimane o due dosi da 1 gr somministrate a distanza di 15 giorni; in entrambi i casi la proteinuria si riduce lentamente, i livelli plasmatici di anti- PLA₂R si azzerano dopo circa 9 mesi e la remissione si osserva anche dopo 2 anni dal trattamento [30] (full text). Non ci sono, infine, molti dati sull'incidenza di ricaduta dopo terapia con rituximab né linee guida che indichino quando e come ritrattare il paziente.

Come abbiamo visto nel lavoro di Fervenza et al. del 2008 [28], la somministrazione di rituximab veniva ripetuta se dopo 6 mesi la proteinuria era >3 gr/24h e se i linfociti B erano $\geq 15/\mu\text{l}$. Remuzzi et al., invece, ritrattava il paziente con una dose singola di 375 mg/m² se vi era evidenza di una ricomparsa della proteinuria ≥ 3.5 gr/24h [31] (full text). Non è chiaro se la somministrazione empirica di una seconda dose indipendentemente da una eventuale ricaduta possa essere di beneficio per il paziente. Di certo, considerate le osservazioni secondo cui un incremento del titolo degli anti- PLA₂R in circolo preceda la ricomparsa della malattia, un dosaggio seriato dei livelli plasmatici di questi anticorpi potrebbe guidare la scelta di un secondo trattamento.

Alla luce di queste evidenze è chiaro come vi sia spazio per l'utilizzo di terapie mirate alla deplezione dei linfociti B in pazienti affetti da iMN, sebbene tale uso rimanga ad oggi "off-label" [6].

Sindrome Nefrosica Idiopatica

La Sindrome Nefrosica Idiopatica (INS) include la malattia a lesioni minime (MCD), la glomerulosclerosi focale e segmentale (FSGS) e la glomerulonefrite mesangiale proliferativa. La MCD e la FSGS rappresentano comuni cause di sindrome nefrosica nei bambini e negli adulti. La patogenesi di queste podocitopatie è correlata ad una complessa interazione tra linfociti B e T ed è, nella MCD in particolare, correlata alla secrezione di un "fattore circolante permeabilizzante" che danneggia la barriera capillare glomerulare incrementandone la permeabilità alle proteine plasmatiche [32]. L'approccio terapeutico rimane ad oggi una sfida per il nefrologo, considerati i severi effetti collaterali dei farmaci immunosoppressori utilizzati. Il primo approccio terapeutico consiste in genere nella terapia steroidea. Nella MCD la terapia iniziale con corticosteroidi per via orale garantisce una percentuale di risposta pari al 75% (definita come remissione completa o parziale), sebbene una notevole parte di questi pazienti vada incontro a numerosi episodi di ricaduta della sindrome nefrosica [33] [34] (full text). Nella FSGS, invece, circa il 63% dei pazienti trattati con steroidi va incontro a remissione completa o parziale, ma circa il 50% di essi presenta uno o più episodi di ricaduta [33] [35] (full text). Nei pazienti con frequenti ricadute o con steroido-dipendenza, l'uso a lungo termine degli steroidi è responsabile di severe complicanze, tra cui l'osteoporosi, dislipidemia, ipertensione, diabete ed aumentato rischio cardiovascolare, rendendo così necessario ricorrere ad agenti immunosoppressori alternativi al fine di minimizzare la dose degli steroidi. In questi pazienti e nei casi di steroido-resistenza è stato, dunque, necessario il ricorso a trattamenti di seconda linea con farmaci quali ciclosporina, tacrolimus, azatioprina, micofenolato mofetile, ciclofosfamide o clorambucil, il cui limite è però legato alla tossicità ed ai severi eventi avversi [33].

Recentemente, il rituximab è emerso come potenziale agente terapeutico in questa categoria di patologie [32]. Il razionale del suo utilizzo si basa oltre che sull'effetto di deplezione dei linfociti B e sull'effetto a carico dei linfociti T, anche sull'azione di stabilizzazione del citoscheletro dei podociti. È stato, infatti, riportato come il rituximab si leghi ai podociti umani grazie all'interazione con la proteina SMPDL-3b (sphingomyelin phosphodiesterase acid-like 3b protein) e regoli l'attività dell'enzima ASMase (acid sphingomyelinase), preservando così gli enzimi podocitari correlati agli sfingolipidi e prevenendo il rimodellamento del citoscheletro podocitario e la conseguente proteinuria [36] (full text).

Il rituximab sembra essere un trattamento alternativo per i casi di sindrome nefrosica da MCD con frequenti ricadute, con steroido-resistenza o steroido-dipendenza soprattutto in età pediatrica [37] (full text) [38], mentre negli adulti con FSGS primitiva si sono avuti risultati discordanti, pur essendo ben tollerato e privo di severi effetti collaterali [39] (full text).

Nel 2007 Ronco P. et al. ha descritto per primo un caso di un paziente adulto affetto da MCD con numerose ricadute e trattato con successo con il rituximab [40].

Successivamente, nel 2013, Munityentwali et al. [41], ha descritto l'uso del rituximab in 17 pazienti adulti con MCD trattati per lungo tempo con steroidi ed altri immunosoppressori. Egli ha osservato una ridotta percentuale di ricadute nei pazienti trattati con rituximab già in remissione rispetto a quelli con patologia ancora in fase attiva. La dose di steroide è stata sensibilmente ridotta da una media di 40 mg/die ad una media di 5.2 mg/die ad 1 anno, ed altri immunosoppressori sono stati sospesi ad 1 anno. Il rituximab era stato somministrato alla dose di 375 mg/m²/settimana per 2-4 settimane; 6 pazienti hanno avuto una ricaduta a causa del ripopolazione dei linfociti B, e di essi 4 hanno risposto al ritrattamento con rituximab, mentre solo 2 pazienti non hanno risposto alla terapia. Munityentwali non ha trovato correlazione tra la dose di rituximab somministrata e l'insorgenza di ricadute.

Nel 2013 Takei et al., ha condotto uno studio prospettico su 25 pazienti adulti con MCD e steroide-dipendenza, trattati con rituximab 375 mg/m² somministrato due volte a distanza di 6 mesi con un follow-up totale di 12 mesi. Ha evidenziato la possibilità di ridurre la dose dello steroide in 1 anno da 26.4±13.5 a 1.1±2.8 mg/die. Inoltre, 3 pazienti sono andati incontro a ricaduta a 6 mesi ed 1 paziente a 12 mesi, in concomitanza con l'incremento dei linfociti B, osservato in 10 pazienti dopo 6 mesi ed in 5 pazienti a 12 mesi, suggerendo così che la ripopolazione dei linfociti B non sempre si associ a ricaduta della malattia [42] (full text).

Nel 2014, infine, Bruchfeld et al, ha presentato i risultati ottenuti da uno studio su 16 pazienti adulti con MCD con frequenti ricadute, steroide-dipendenza o steroide-resistenza, a cui era stato somministrato rituximab alla dose totale di 1000-2800 mg divisa in 2-4 dosi. Un totale di 13 pazienti sono andati incontro a remissione completa dopo la dose iniziale, 2 sono andati incontro a remissione parziale ed 1 non ha avuto alcuna risposta al farmaco. Dopo un follow-up di 12-70 mesi, 8 pazienti sono rimasti in remissione, 7 hanno avuto una ricaduta dopo 9-28 mesi ed in 4 di questi è stata ripetuta la terapia con rituximab. Questa esperienza ha rafforzato ulteriormente il ruolo del rituximab nel trattamento delle MCD steroide-dipendenti, steroide-resistenti o con molteplici ricadute, sottolineando la capacità del farmaco di permettere una riduzione o sospensione degli steroidi in tutta sicurezza [43].

Tra gli studi condotti su bambini, nel 2010 Prytula et al. [44], ha condotto uno studio descrittivo inviando dei questionari ai nefrologi appartenenti all'International Pediatric Nephrology Association, ed ha incluso 70 bambini provenienti da 25 centri di tutto il mondo; di essi il 51% presentava sindrome nefrosica steroide-dipendente o con frequenti ricadute, il 49% sindrome nefrosica steroide-resistente, 15 pazienti presentavano ricorrenza della sindrome nefrosica post-trapianto. Ha risposto al rituximab il 44% dei pazienti con steroide-resistenza e l'82% di quelli con steroide-dipendenza o frequenti ricadute.

Nel 2011 Ravani et al., ha ipotizzato che il rituximab associato ad una bassa dose di steroide e ciclosporina fosse non inferiore alla dose steroidea standard in bambini con sindrome nefrosica steroide-dipendente [45] (full text). Sono stati inclusi nello studio randomizzato controllato rispettivamente 10 e 6 pazienti con FSGS e MCD nel gruppo di controllo e 7 e 13 pazienti con FSGS ed MCD nel gruppo rituximab. Sono stati inclusi solo pazienti steroide-dipendenti, ma esclusi quelli dipendenti da alte dosi di prednisone (0.7 mg/Kg/die). L'efficacia del Rituximab è stata confermata dalla percentuale di riduzione della proteinuria delle 24 ore dopo 3 mesi di trattamento rispetto alla terapia standard. Nel 2012, però, gli stessi autori [46] (full text), hanno condotto uno studio randomizzato controllato in cui sono stati inclusi 31 bambini (19 FSGS, 7 MCD e 5 non determinati) con sindrome nefrosica steroide-resistente e monitorati per 3 mesi. È stata mantenuta, inoltre, la terapia standard

somministrata precedentemente. I risultati sono stati discordanti, per cui gli autori hanno concluso che i loro dati non supportano l'aggiunta del rituximab al regime terapeutico standard per indurre remissione nei bambini con INS.

Nel 2012 Kemper et al., ha condotto uno studio pediatrico su 29 bambini con sindrome nefrosica e frequenti ricadute, monitorati per 36 mesi e sottoposti a terapia con Rituximab secondo il protocollo utilizzato nei casi di linfoma. Egli ha osservato come nei casi di ricaduta della sindrome nefrosica, la conta CD20/CD19 fosse simile a quella osservata prima di somministrare il rituximab, suggerendo che la ripopolazione dei linfociti B possa rappresentare un fattore di rischio associato a ricaduta [37] (full text).

Ito et al., infine, nel 2013 ha condotto uno studio su 74 bambini con MCD e frequenti ricadute o sindrome nefrosica steroide-dipendente. Di questi, il 77% ha sospeso lo steroide, 6 sono andati incontro a remissione completa e 6 a remissione parziale dopo terapia con rituximab e follow-up di 12 mesi. Dei bambini liberi da ricadute, il 60% era costituito da coloro che non avevano sospeso l'immunosoppressore, mentre meno del 20% da coloro che lo avevano sospeso, suggerendo che la remissione possa essere dovuta più alla prosecuzione della terapia steroidea che al rituximab [38].

I dati sull'impiego del rituximab negli adulti affetti da FSGS primitiva sono riferibili a pochi e limitati case reports o a piccoli studi che hanno riportato risultati contrastanti. In particolare, nel 2009 Fernandez-Fresnedo et al. [39] (full text) ha descritto l'uso del rituximab nel trattamento della sindrome nefrosica da FSGS in 8 pazienti adulti resistenti alla ciclofosfamide e trattati con molteplici immunosoppressori. La dose è stata quella utilizzata nel protocollo dei linfomi a cellule B. Dei pazienti trattati, 5 sono rimasti con sindrome nefrosica e 2 di essi sono andati incontro a declino della funzione renale; 2 pazienti, invece, hanno presentato un significativo miglioramento della proteinuria delle 24 ore.

In conclusione, i diversi studi suggeriscono come la terapia con rituximab sia ben tollerata e induca remissione in un'ampia proporzione di pazienti affetti da MCD steroide-dipendente e con frequenti ricadute, nei quali permette anche la riduzione dello steroide. Non ci sono, invece, evidenze che supportino l'impiego del rituximab negli adulti affetti da FSGS primitiva, per cui saranno necessari futuri studi randomizzati controllati.

Le linee guida K-DIGO [25] raccomandano, tuttavia, l'uso del rituximab esclusivamente nei bambini affetti da MCD steroide-sensibile e con frequenti ricadute, e nei quali l'utilizzo di steroidi e immunosoppressori abbia causato severe complicanze.

Altre Patologie Glomerulari Primitive

Abbiamo a disposizione pochi dati sull'uso del rituximab nel trattamento di altre patologie glomerulari primitive [12] (full text). In uno studio prospettico del 2011, Sugiura et al., ha valutato l'efficacia del rituximab, somministrato in singola dose, in 24 pazienti con diverse glomerulonefriti, inclusi 5 casi di glomerulonefrite a depositi mesangiali di IgA, senza il riscontro peraltro di alcun beneficio correlato all'uso di questo anticorpo monoclonale [47].

Sono pochi, ugualmente, i dati relativi all'uso del rituximab nella glomerulonefrite fibrillare.

Javaugue et al. [48], nel 2013, ha pubblicato i dati su uno studio comprendente 7 pazienti affetti da GN fibrillare e trattati con rituximab. Il 71% di questi ha ottenuto un effetto renale positivo rispetto al 16% di quelli trattati con altri immunosoppressori ed al 14% di quelli trattati con la sola terapia conservativa.

Nel 2013 è stato, infine, pubblicato uno studio sull'utilizzo del rituximab nelle glomerulonefriti da anticorpi anti-membrana basale glomerulare, patologia mediata da anticorpi [49]. Sono stati individuati 5 casi di pazienti trattati con rituximab, di cui 4 hanno recuperato la

funzione renale evitando la dialisi. Trattandosi di una patologia rara è difficile che vengano eseguiti dei trials per comparare il rituximab con la ciclofosfamide, sebbene il primo possa essere un'alternativa terapeutica nei pazienti con controindicazioni alla ciclofosfamide.

In conclusione, sono necessari futuri studi per valutare l'efficacia del rituximab nel trattamento di queste glomerulopatie.

Impiego nelle glomerulopatie secondarie

Nefrite Lupica

Il lupus eritematoso sistemico (SLE) rappresenta una patologia cronica a coinvolgimento multisistemico e ad eziopatogenesi autoimmune, caratterizzata dalla produzione di diversi autoanticorpi, tra cui gli anti-dsDNA, e dal deposito di immunocomplessi in diversi organi [6] [12] (full text). Il deposito dei suddetti immunocomplessi a livello glomerulare è responsabile della nefrite lupica (LN), che si osserva in circa il 75% dei pazienti nel corso della patologia e rappresenta un importante predittore di morbilità e mortalità. Sebbene la sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con LN IV classe sia passata dal 17 all'80% negli ultimi 50 anni, circa il 10-20% di questi pazienti evolve ancora oggi verso l'uremia terminale e la necessità di terapia sostitutiva dialitica.

Il SLE è una patologia che caratteristicamente va incontro ad episodi di remissione e di recidiva nel corso del tempo. La terapia si basa sull'induzione della remissione con basse dosi di ciclofosfamide (euro-lupus) e micofenolato mofetile (MMF) e sul mantenimento con MMF o azatioprina (AZA), sebbene spesso la risposta a tale terapia sia inadeguata o lenta, e comunque gravata da severi effetti collaterali dovuti alla tossicità dei farmaci [6] [12] (full text). Tra l'altro, spesso viene associata la terapia steroidea, con incremento del rischio cardio-vascolare e di mortalità nel lungo termine. Queste problematiche, oltre al meccanismo patogenetico responsabile della patologia, potrebbero rappresentare il razionale alla base dell'utilizzo di terapie alternative quali il rituximab.

Dati iniziali sull'uso del rituximab nella LN sono stati rilevati dal registro UK-BIOGEAS, in cui sono raccolti i dati di 164 pazienti provenienti da diversi Centri Europei ed affetti da LN diagnosticata biotpicamente. Il rituximab, somministrato indifferentemente alla dose di 1 gr x 2 a distanza di 15 giorni o di 375 mg/m²/settimana per 4 settimane, era stato praticato come terapia di prima linea nel 10% dei pazienti, per trattare una ricaduta nel 44% dei casi ed in presenza di patologia resistente ai comuni immunosoppressori nel 46% dei pazienti. Una remissione completa o parziale era stata osservata nel 67% dei pazienti a 6 e 12 mesi [50].

Nello stesso anno, Gregersen et al., ha rivalutato i dati di 21 studi coinvolgenti 300 pazienti, evidenziando come circa 1/5 dei pazienti non avesse risposto alla terapia convenzionale e come circa il 65-80% dei pazienti con LN refrattaria o con frequenti ricadute avesse dimostrato una risposta alla terapia con rituximab [51].

Due studi randomizzati controllati hanno valutato l'efficacia del rituximab rispettivamente nelle forme extrarenali (EXPLORER, 53) e renali (LUNAR, 54) di SLE. Nel 2010, lo studio EXPLORER [52] ha valutato 257 pazienti con manifestazioni extrarenali moderate-severe di LN e sottoposti alla terapia immunosoppressiva convenzionale con micofenolato, azatioprina o methotrexate. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a terapia steroidea ad alto dosaggio e randomizzati a rituximab 1 gr o a placebo somministrati ai giorni 1, 15, 168 e 182. Dopo un follow-up di 52 settimane, non sono state evidenziate differenze nella risposta alla terapia tra i due gruppi.

Tabella 1. Studi clinici delle principali forme glomerulari

Studio	Popolazione	Terapia rituximab	Outcome
Glomerulopatie primitive			
Glomerulonefrite Membranosa Idiopatica			
Ruggenenti et al. (26)	100 pts	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 29 mesi: 65%
Ruggenenti et al. (27)	8 pts	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Riduzione proteinuria ad 1 anno (da 8.6 a 3.0 gr/24h)
Fervenza et al. (28)	14 pts	1 gr al giorno 0 e 14, ripetuta dopo 6 mesi se proteinuria >3gr/24h e linfociti B ≥15/μl	Remissione a 12 mesi: 57%
Fervenza et al. (29)	18 pts	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane) ripetuta dopo 6 mesi	Remissione a 24 mesi: 89%
Beck et al. (30)	23 pts	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)/ 1 gr al giorno 0 e 14	Remissione a 12 mesi: 43%
Cravedi et al. (31)	36 pts (12 rituximab vs. 24 terapia standard)	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 12 mesi paragonabile (25%) tra rituximab e terapia standard
Sindrome Nefrosica Idiopatica (INS)			
Kemper et al. (37)	37 pts	375 mg/m ² /sett (per 1-4 settimane)	Remissione a 12 mesi: 69%
Ito et al. (38)	74 pts	375 mg/m ² (per 1-4 settimane)	Remissione a 24 mesi: 53%
Fernandez-Fresnedo et al. (39)	8 pts	375 mg/m ² /sett (per ≥4 sett)	Remissione a 12 mesi: 0%
Munyentwali et al. (41)	17 pts	375 mg/m ² /settimana per 2-4 settimane	Remissione a 27 mesi: 65%
Takei et al. (42)	25 pts	375 mg/m ² a 0 e 6 mesi	Remissione a 12 mesi: 68%
Bruchfeld et al. (43)	16 pts	1000-2800 mg totali in 2-4 somministrazioni	Remissione a 44 mesi: 50%
Prytula et al. (44)	70 pts	375 mg/m ² /sett (per ≥4 settimane)	Remissione: 63%
Ravani et al. (45)	54 pts (27 rituximab vs. 27 terapia standard)	375 mg/m ² (1-2 somministrazioni)	Remissione rituximab: 82% Remissione terapia standard: 52%
Magnasco et al. (46)	31 pts (16 rituximab vs. 15 terapia standard)	375 mg/m ² al giorno 0 e 14	Rituximab non riduce la proteinuria dopo 3 mesi di trattamento rispetto alla terapia standard
Kemper et al. (47)	37 pts	375 mg/m ² /sett (per 1-4 settimane)	Remissione a 12 mesi: 70%
Glomerulonefrite a depositi mesangiali di IgA			
Sugiura et al. (48)	5 pts	Dose singola	Rituximab non riduce la proteinuria dopo 6 mesi di trattamento rispetto al basale
Glomerulonefrite fibrillare			
Javaugue et al. (49)	7 pts	Non riportato il dosaggio	Remissione a 46 mesi: 71%
Glomerulopatie secondarie			
Nefrite lupica			
Diaz-Lagares et al. (51)	164 pts	1 gr al giorno 0 e 14; 375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 12 mesi: 67%

Merrill et al. (53)	257 pts (169 rituximab vs. 88 terapia standard)	1 gr al giorno 1, 15, 168 e 182	Remissione a 12 mesi: 30% rituximab vs. 28% terapia standard
Rovin et al. (54)	144 pts (72 rituximab vs. 72 terapia standard)	1 gr al giorno 1, 15, 168 e 182	Remissione a 12 mesi: 57% rituximab vs. 46% terapia standard
Condon et al. (55)	50 pts	1 gr al giorno 1, 15	Remissione: 90%
Jonsdottir et al. (56)	25 pts	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 36 mesi: 88%
Glomerulonefrite crioglobulinemica			
De Vita et al. (58)	59 pts (29 rituximab vs. 30 terapia standard)	1 gr al giorno 0 e 14 da ripetere in caso di relapses	Pazienti che proseguivano la terapia: 63% rituximab, 4% terapia standard.
Sneller et al. (59)	24 pts (12 rituximab vs. 12 terapia standard)	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 6 mesi: 83% rituximab vs. 8% terapia standard
Terrier et al. (60)	23 pts	Non specificato	Remissione: 80%
Saadoun et al. (61)	93 pts (38 rituximab vs. 55 terapia standard)	1 gr al giorno 0 e 14; 375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione più precoce dopo rituximab (4 vs. 8 mesi)
Dammacco et al. (62)	17 pts (12 rituximab vs. 5 terapia standard)	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane); in seguito 375 mg/m ² al mese 6 e 11	Remissione a 36 mesi: 83% rituximab vs. 40% terapia standard
Vasculiti Sistemiche ANCA correlate			
Jones et al. (64)	44 pts (33 rituximab vs. 11 terapia standard)	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 12 mesi: 76% rituximab vs. 82% terapia standard.
Stone et al. (65)	197 pts (99 rituximab vs. 98 terapia standard)	375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione a 6 mesi: 64% rituximab vs. 53% terapia standard
Cartin-Ceba et al. (67)	53 pts	1 gr al giorno 0 e 14; 375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	32 relapses, tutti seguiti da remissione dopo ritrattamento con rituximab
Smith et al. (68)	73 pts	1 gr al giorno 0 e 14; 375 mg/m ² /sett (per 4 settimane)	Remissione 6 mesi: 95%
Terrier et al. (69)	109 pts (56 rituximab vs. 53 terapia standard)	500 mg al giorno 1 e 15, mese 6, 12 e 18	Remissione a 34 mesi: 89% rituximab vs. 55% terapia standard

Pts, pazienti.

Nel 2012, invece, con lo studio LUNAR [53] sono stati valutati 144 pazienti affetti da LN stadio III o IV alla biopsia, trattati con steroide (tre boli ev di metilprednisolone seguiti dal prednisolone per via orale) e con micofenolato. I pazienti sono stati randomizzati a rituximab 1 gr o placebo, somministrati nei giorni 1, 15, 168 e 182. L'end-point primario consisteva nel raggiungimento di una remissione completa o parziale a 52 settimane. Non sono emerse differenze significative tra i due gruppi circa il raggiungimento dell'end-point primario (56.9% nel gruppo Rituximab vs 45.8% nel gruppo Placebo; in particolare remissione completa 26% vs 31%, remissione parziale 31% vs 15% rispettivamente nei gruppi rituximab e placebo). È stata, invece, riscontrata, nel gruppo rituximab, una significativa riduzione dei livelli circolanti degli anticorpi anti-dsDNA e del complemento. Questo studio presentava, tuttavia, una serie di limitazioni, tra cui principalmente il tempo limitato di osservazione dei pazienti che ha impedito l'emergere di risultati significativi a favore del rituximab.

Nel 2013 Condon et al. [54], ha riportato i risultati di uno studio prospettico osservazionale monocentrico (RITUXILUP) sull'uso del rituximab e del MMF nel trattamento della LN, al fine di non somministrare terapia steroidea per via orale. Un totale di 50 pazienti con LN classe III, IV o V alla biopsia, sono stati trattati con 1 gr di rituximab somministrato al giorno 1 ed al giorno 15 e Metilprednisolone. Veniva, inoltre, mantenuta la terapia con micofenolato senza aggiungere altri immunosoppressori. Dallo studio è emerso come il 90% dei pa-

zienti abbia raggiunto la remissione completa o parziale, dimostrando il potenziale ruolo del rituximab nel trattamento della LN.

Nello stesso anno Jonsdottir et al. [55] (full text), ha valutato l'uso del rituximab in 25 pazienti affetti da LN refrattaria alle terapie convenzionali. Nei 36 mesi di osservazione, eseguita la biopsia renale a tempo zero ed alla fine dello studio, è stato evidenziato un miglioramento clinico ed istologico nei pazienti trattati con rituximab, sottolineando come un lungo periodo di deplezione dei linfociti B e di mantenimento di bassi livelli delle IgM fosse predittore di una buona risposta alla terapia.

Infine, è ancora in corso di arruolamento lo studio RING (Rituximab for Lupus Nephritis With Remission as a Goal), un trial randomizzato di fase III avente l'obiettivo di valutare l'efficacia del rituximab nell'ottenere una completa risposta renale nei pazienti con LN e persistente proteinuria (≥ 1 g/24h) dopo 6 mesi di terapia standard.

Il rituximab è, quindi, un farmaco promettente nel trattamento della LN, soprattutto al fine di ridurre la terapia steroidea, spesso associata ad altri immunosoppressori in questa patologia. Sono necessari, tuttavia, ulteriori studi per dimostrare la reale efficacia e sicurezza di questo farmaco in questa categoria di pazienti.

Glomerulonefrite Crioglobulinemica

La crioglobulinemia è una vasculite multisistemica caratterizzata dal deposito nei piccoli vasi di immunocomplessi costituiti in genere da IgM e IgG. Le crioglobuline sono immunoglobuline che precipitano reversibilmente quando il siero è esposto a basse temperature (4°C). Secondo la classificazione di Brouet [56] si distinguono tre tipi di crioglobulinemia: il tipo 1 è caratterizzato da una singola immunoglobulina monoclonale e si riscontra principalmente nelle patologie ematologiche maligne come il mieloma o la macroglobulinemia di Waldenström; il tipo 2 è rappresentato da una crioglobulinemia mista, costituita da una IgG policlonale e da una IgM monoclonale con attività anti-IgG-reumatoide; il tipo 3, infine, è caratterizzato da più immunoglobuline policlonali e si osserva prevalentemente nelle patologie reumatiche.

La crioglobulinemia mista può essere primitiva idiopatica oppure secondaria a diverse patologie, tra cui infezioni, in particolare da virus dell'epatite C (HCV), patologie linfoproliferative o autoimmuni, e manifestarsi oltre che con la triade di Meltzer (astenia, artralgie e porpora), con manifestazioni neurologiche e renali (glomerulonefrite mesangioproliferativa con sindrome nefritica o con sindrome nefrosica).

Nelle forme HCV-correlate, la proliferazione delle cellule B è seguita dalla sintesi di alti livelli di IgM con attività anti-IgG-reumatoide, che si legano alle particelle virali ed alle IgG policlonali formando delle crioglobuline miste. Questi immunocomplessi a loro volta si legano alle cellule endoteliali con attivazione della cascata del complemento, richiamo di cellule proinfiammatorie e conseguente vasculite leucocitoclastica dei piccoli vasi ad interessamento cutaneo, neurologico e renale [12] (full text).

Il ruolo dei linfociti B nella produzione di immunocomplessi rappresenta il razionale per l'utilizzo del rituximab.

Nel 2012 De Vita et al. [57], ha condotto uno studio randomizzato controllato di fase III multicentrico in cui ha incluso 59 pazienti con vasculite crioglobulinemica (CV) randomizzati a rituximab (1 gr x 2 al giorno 0 e 14, da ripetere in caso di recidiva) + steroide o a terapia convenzionale (steroidi da solo, azatioprina, ciclofosfamide o plasmaferesi). I pazienti con CV HCV-correlata sono stati inclusi solo in caso di fallimento della terapia con anti-virali da soli. Dopo 12 mesi, l'end-point primario (proporzione di pazienti che proseguivano la te-

rapia) è stato raggiunto dal 63% dei pazienti del gruppo rituximab rispetto al 4% dei pazienti del gruppo di controllo, nei quali la principale causa di sospensione della terapia consisteva nella scomparsa di risposta o nel peggioramento delle manifestazioni a carico dei vari organi.

Nello stesso anno Sneller et al. [58], ha randomizzato 24 pazienti con CV HCV-correlata, non responsivi ai soli antivirali, a rituximab (375 mg/m² per 4 settimane) o alla terapia standard con incremento dell'immunosoppressione o introduzione di un nuovo farmaco immunosoppressivo. L'end-point primario, ovvero la percentuale di remissione a 6 mesi, è stato raggiunto dall'83% dei pazienti del gruppo rituximab rispetto all'8% del gruppo di controllo. Nel gruppo rituximab, inoltre, non è stato evidenziato alcun peggioramento dell'infezione da HCV, ed è stata evidenziata una stabilizzazione o addirittura un miglioramento degli indici di funzionalità renale.

Nel 2013, infine, Terrier et al. [59], ha rivalutato la terapia di 23 pazienti con CV tipo 1 trattati con rituximab come terapia di prima, seconda, terza o quarta linea. L'80% di questi pazienti ha presentato una risposta clinica alla terapia con rituximab.

Nelle vasculiti crioglobulinemiche HCV-correlate la terapia si basa sul solo utilizzo di farmaci antivirali in caso di malattia lieve-moderata, e sull'associazione con farmaci immunosoppressori con azione anti-linfociti B in caso di patologia severa. Da diversi studi è emerso come il rituximab associato ai farmaci antivirali sia molto più efficace di questi ultimi da soli.

Nel 2010 Saadoun et al. [60] (full text), ha messo a confronto interferone- α -peghilato + ribavirina da soli e associati a rituximab (375 mg/m² per 4 settimane o 1 gr x 2 a distanza di 15 giorni) in 93 pazienti con vasculite crioglobulinemica ed HCV. Ha evidenziato nel gruppo rituximab un più breve tempo di remissione clinica (5.4 vs 8.4 mesi), una migliore risposta renale definita come normalizzazione della creatininemia e scomparsa delle alterazioni urinarie (80% vs. 40%) ed una maggiore clearance delle crioglobuline (68% vs. 43%).

Nello stesso anno Dammacco et al. [61] (full text) ha evidenziato effetti simili aggiungendo il rituximab alla terapia antivirale in pazienti con CV HCV-correlata (remissione completa nel 54% dei pazienti nel gruppo rituximab rispetto al 33% dei pazienti nel gruppo di controllo). La remissione completa è stata, inoltre, mantenuta nei successivi 3 anni di follow-up dopo la fine del trattamento, nell'83% dei pazienti del gruppo rituximab rispetto al 40% dei pazienti del gruppo di controllo.

È, dunque, possibile concludere come il rituximab abbia di certo un ruolo nel trattamento sia delle forme di crioglobulinemia mista non infettiva [57] [59] sia di quelle HCV-correlate [58] [60] (full text) [61] (full text), mentre è ad oggi controindicato nelle infezioni da HBV o da HIV con viremia attiva [12] (full text).

Vasculiti Sistemiche correlate agli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA)

Con il termine di vasculiti ANCA-associate (AAV) indichiamo un gruppo di patologie multisistemiche ad eziopatogenesi autoimmune, caratterizzate da necrosi infiammatoria dei piccoli vasi. Il termine AAV comprende la granulomatosi con poliangioite (GPA, nota come granulomatosi di Wegener), la poliangioite microscopica (MPA), la granulomatosi eosinofila con poliangioite (EGPA, nota come sindrome di Churg-Strauss), e le vasculiti ad esclusivo interessamento renale [6] [62]. Si tratta di patologie gravate da un tasso di mortalità pari all'80-90% se non trattate. Il coinvolgimento renale è caratterizzato da una glomerulonefrite rapidamente progressiva (RPGN) e rappresenta la principale causa di morbidità e mortalità,

evolvendo nel 50% dei casi verso l'ESRD o la morte del paziente. Tra le manifestazioni vascolitiche, nella GPA e nella MPA è possibile osservare anche emorragie polmonari, porpora e neuropatia periferica. La GPA si caratterizza per la presenza di lesioni granulomatosi e coinvolgimento delle alte vie respiratorie oltre che del polmone. La EGPA, invece, è caratterizzata da eosinofilia, vasculite necrotizzante ed infiammazione granulomatosa ricca in eosinofili [62]. Si tratta, inoltre, di patologie che tendono a recidivare nel 50% dei pazienti anche dopo 5 anni dalla remissione [6].

Nella patogenesi è implicata la risposta immunitaria umorale e cellulo-mediata, ed il principale target antigenico degli anticorpi ANCA è rappresentato dalla proteinasi 3 (PR3) e dalla mieloperossidasi (MPO), presenti su neutrofili e monociti. In particolare, la positività degli ANCA si osserva nel 90% dei casi di GPA ed MPA, con prevalenza degli ANCA anti-PR3 nella GPA e degli ANCA anti-MPO nella MPA [62], e solo nel 40% dei casi di EGPA.

Come nel SLE, il trattamento delle AAV consiste di una fase di induzione della durata di circa 3-6 mesi classicamente con Corticosteroidi e Ciclofosfamide, e di una fase di mantenimento con Azatioprina o Metotrexato [6]. Nella fase di induzione è possibile intervenire anche con il trattamento di plasma-exchange nei casi di severo coinvolgimento renale ed emorragie polmonari. Questo schema di trattamento è però gravato da severe complicanze a breve termine correlate alla tossicità dei farmaci utilizzati, con rischio di infertilità, infezioni, cistite emorragica e dall'aumentato rischio di neoplasie nel lungo termine.

Il razionale dell'utilizzo del rituximab in queste patologie si basa sulla patogenicità degli ANCA, sul ruolo dei linfociti B presenti nelle lesioni vascolitiche, e sulla correlazione tra la loro attivazione e l'attività clinica della patologia. Inoltre, un'ulteriore conferma del ruolo centrale dei linfociti B sta nel fatto che l'efficacia della ciclofosfamide nelle AAV è correlata alla sua azione anti-B, e che l'autoreattività dei linfociti B è correlata con la disregolazione dei linfociti T osservata nelle AAV [62].

Due studi randomizzati controllati, il RITUXVAS ed il RAVE [63] (full text) [20] (full text), pubblicati nel 2010 nello stesso numero del New England Journal of Medicine, hanno dimostrato la non inferiorità del Rituximab rispetto alla Ciclofosfamide nella terapia di induzione. In seguito alla loro pubblicazione, nel 2011 la FDA ha esteso l'indicazione del rituximab al trattamento delle micropoliangioiti sistemiche ANCA-associate. Nello studio RITUXVAS [63] (full text), 44 pazienti con recente diagnosi di AAV e severo coinvolgimento renale hanno ricevuto il trattamento standard con corticosteroidi e sono stati randomizzati a rituximab (375 mg/m²/settimana per 4 settimane) associato a ciclofosfamide (15 mg/Kg alla prima ed alla terza settimana di somministrazione del rituximab) senza azatioprina di mantenimento, oppure a ciclofosfamide (ogni 2-3 settimane per 3-6 mesi) seguita da azatioprina di mantenimento. Dallo studio non sono emerse differenze tra i due gruppi nel raggiungimento dell'end-point primario, rappresentato dal tasso di remissione e dalla comparsa di severi eventi avversi a 12 mesi. La remissione è stata raggiunta dal 76% dei pazienti del gruppo rituximab e nell'82% del gruppo di controllo, e gli eventi avversi severi sono stati osservati nel 42% dei pazienti del gruppo rituximab e nel 36% del gruppo di controllo. Nello studio RAVE [20] (full text) sono, invece, stati inclusi pazienti con nuova diagnosi e pazienti con recidiva di AAV con positività degli ANCA anti-PR3 e anti-MPO. Un totale di 197 pazienti con patologia severa sono stati arruolati a rituximab (375 mg/m²/settimana per 4 settimane) o a ciclofosfamide per via orale (2 mg/Kg/die, aggiustata in base alla funzione renale). I pazienti che, dopo 3-6 mesi hanno raggiunto la remissione, sono stati passati ad azatioprina se appartenenti al gruppo ciclofosfamide e a placebo se appartenenti al gruppo rituximab. Entrambi sono stati sottoposti al trattamento steroideo standard. L'end-point primario, ovvero il raggiungimento della remissione a 6 mesi con completa sospensione

dello steroide, è stato raggiunto dal 64% dei pazienti del gruppo rituximab rispetto al 53% del gruppo di controllo, indicando una non inferiorità del rituximab rispetto alla ciclofosfamide. È, inoltre, da evidenziare come nel sottogruppo di pazienti con malattia recidivante, il rituximab abbia dimostrato una superiorità statisticamente significativa rispetto alla ciclofosfamide nel raggiungimento dell'end-point primario (67% rituximab vs 42% ciclofosfamide).

Recentemente sono stati pubblicati i risultati del follow-up a lungo termine dello studio RAVE [64] (full text). I pazienti sono stati monitorati per 18 mesi; come è stato precedentemente detto, il gruppo rituximab dopo 6 mesi non ha ricevuto alcuna terapia di mantenimento, mentre il gruppo ciclofosfamide ha proseguito la terapia con azatioprina. Il tasso di remissione completa nel gruppo rituximab è stato del 64%, 47% e 39% rispettivamente a 6, 12 e 18 mesi, e del 53%, 39% e 33% rispettivamente nel gruppo di controllo. Nei pazienti con malattia recidivante, la superiorità del rituximab è stata confermata a 12 mesi ma non a 18 mesi, momento in cui la maggior parte dei pazienti è andato incontro a ripopolazione dei linfociti B.

Il quesito è, dunque, quando risomministrare il rituximab per evitare una recidiva. A tal proposito, nel 2012 Cartin-Ceba et al. [65], ha analizzato una coorte di 53 pazienti affetti da GPA con frequenti recidive, per la maggior parte con positività agli ANCA-PR3 che avevano ricevuto rituximab come terapia di induzione. Tutti i pazienti che sono andati incontro a recidiva indicata da un incremento dei linfociti B (con linfociti B CD19 > CD20) e da un incremento del titolo degli ANCA-PR3 ma non da segni clinici di recidiva, sono stati sottoposti nuovamente a terapia di induzione. Il rituximab si è dimostrato efficace nel mantenimento della remissione.

Nello stesso anno Smith et al. [66], ha dimostrato che ritrattare il paziente con 1 gr di rituximab ogni 6 mesi per 2 anni riduce il tasso di recidiva dal 73% al 12% se confrontato con un regime terapeutico in cui il rituximab non viene più somministrato dopo l'induzione della remissione. È stato, dunque, ipotizzato come il ritrattamento con rituximab in un periodo libero da malattia possa rimuovere un'ampia porzione di linfociti B autoreattivi.

Vi sono, infine, degli studi volti a valutare l'utilizzo del rituximab nella terapia di mantenimento. Uno studio randomizzato controllato open-label in Francia (MAINRITSAN) ha comparato azatioprina (2 mg/Kg/die) al rituximab (500 mg al giorno 1 ed al giorno 15, e poi ogni 6 mesi per un totale di 5 somministrazioni) in 109 pazienti con AAV già in remissione. Nel gruppo rituximab è stata evidenziata una ridotta percentuale di recidiva a 34 mesi rispetto al gruppo di controllo (10.7% gruppo rituximab vs 45.3% gruppo azatioprina) [67] (full text). Questo studio ha portato ad un altro ancora in corso, il MAINRITSAN 2 [68], in cui un gruppo viene trattato come nel precedente studio MAINRITSAN, mentre l'altro gruppo, dopo una prima infusione di 500 mg di Rituximab, viene ritrattato solo in caso di incremento dei linfociti B (con conta CD19 > 0/mm³) o incremento del titolo ANCA.

Ad oggi, tuttavia, le linee guida K-DIGO raccomandano l'utilizzo del rituximab associato alla terapia steroidea come terapia di induzione in alternativa alla ciclofosfamide esclusivamente nei pazienti senza malattia severa o con controindicazioni alla ciclofosfamide o resistenti alla terapia con ciclofosfamide e steroidi [25].

Il gruppo di studio francese delle vasculiti (FVSG) ha, invece, pubblicato recentemente le raccomandazioni sull'utilizzo del rituximab nelle AAV, in cui si consiglia di ricorrere al rituximab come terapia di induzione al posto della ciclofosfamide in pazienti affetti da GPA o MPA, preferibilmente di età > 30 anni, e come terapia in casi di recidiva per quei pazienti che sono già stati trattati con una dose piena di ciclofosfamide. Sconsigliano, invece, il ricorso al rituximab in caso di patologia non severa con un basso grado di attività, che può essere

trattata senza farmaci citotossici, o nei pazienti di età >65 anni per l'alto rischio di infezioni [69].

Conclusioni

Le glomerulonefriti costituiscono un gruppo eterogeneo di patologie in cui è ormai evidente il ruolo patogenetico dei linfociti B, per cui sempre più si tende a ricorrere a farmaci che ne inducano una deplezione, soprattutto nei pazienti refrattari alle terapie convenzionali o nei quali esse siano controindicate per l'elevata tossicità. Le evidenze circa l'efficacia di questi farmaci, in particolare del rituximab, sono sempre maggiori, tuttavia, l'unica indicazione approvata è nella terapia di induzione delle AAV. Il limite sta nel fatto che la maggior parte degli studi riportati in letteratura ha un follow-up troppo breve, per cui non sono ancora ben noti gli effetti a lungo termine della deplezione dei linfociti B. Sono necessari, dunque, ulteriori studi per valutare gli effetti a lungo termine di questa classe di farmaci.

Bibliografia

- [1] PRESSMAN D, KORNGOLD L The in vivo localization of anti-Wagner-osteogenic-sarcoma antibodies. *Cancer* 1953 May;6(3):619-23 (full text)
- [2] Köhler G, Milstein C Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975 Aug 7;256(5517):495-7
- [3] Scott SD Rituximab: a new therapeutic monoclonal antibody for non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer practice* 1998 May-Jun;6(3):195-7
- [4] Ramanath V, Nistala R, Chaudhary K et al. Update on the role of rituximab in kidney diseases and transplant. *Expert opinion on biological therapy* 2012 Feb;12(2):223-33
- [5] Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Muñoz S et al. A systematic review of the off-label use of biological therapies in systemic autoimmune diseases. *Medicine* 2008 Nov;87(6):345-64
- [6] Tanna A, Tam FW, Pusey CD et al. B-cell-targeted therapy in adult glomerulonephritis. *Expert opinion on biological therapy* 2013 Dec;13(12):1691-706
- [7] Smith MR Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene* 2003 Oct 20;22(47):7359-68
- [8] Einfeld DA, Brown JP, Valentine MA et al. Molecular cloning of the human B cell CD20 receptor predicts a hydrophobic protein with multiple transmembrane domains. *The EMBO journal* 1988 Mar;7(3):711-7
- [9] Riley JK, Sliwkowski MX CD20: a gene in search of a function. *Seminars in oncology* 2000 Dec;27(6 Suppl 12):17-24
- [10] Avivi I, Stroopinsky D, Katz T et al. Anti-CD20 monoclonal antibodies: beyond B-cells. *Blood reviews* 2013 Sep;27(5):217-23
- [11] Anolik JH, Campbell D, Felgar RE et al. The relationship of FcγRIIIa genotype to degree of B cell depletion by rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* 2003 Feb;48(2):455-9
- [12] Evans R, Salama AD Update on rituximab: an established treatment for all immune-mediated kidney diseases? *Nephron. Clinical practice* 2014;126(3):97-109 (full text)
- [13] Rosman Z, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G et al. Biologic therapy for autoimmune diseases: an update. *BMC medicine* 2013 Apr 4;11:88 (full text)
- [14] Mohrbacher A B cell non-Hodgkin's lymphoma: rituximab safety experience. *Arthritis research & therapy* 2005;7 Suppl 3:S19-25 (full text)
- [15] Shetty S, Ahmed AR Preliminary analysis of mortality associated with rituximab use in autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2013 Dec;46(8):487-96
- [16] Fervenza FC Rituximab in ANCA-associated vasculitis: fad or fact? *Nephron. Clinical practice* 2011;118(2):c182-8; discussion c188 (full text)
- [17] Carson KR, Evens AM, Richey EA et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood* 2009 May 14;113(20):4834-40 (full text)
- [18] Lands LC New therapies, new concerns: rituximab-associated lung injury. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2010 Jun;25(6):1001-3
- [19] Armitage JD, Montero C, Benner A et al. Acute coronary syndromes complicating the first infusion of rituximab. *Clinical lymphoma & myeloma* 2008 Aug;8(4):253-5
- [20] Stone JH, Merkel PA, Spiera R et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *The New England journal of medicine* 2010 Jul 15;363(3):221-32 (full text)
- [21] McQuarrie EP, Mackinnon B, Stewart GA et al. Membranous nephropathy remains the commonest primary cause of nephrotic syndrome in a northern European Caucasian population. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010 Mar;25(3):1009-10; author reply 1010-1 (full text)

- [22] Hofstra JM, Fervenza FC, Wetzels JF et al. Treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Nature reviews. Nephrology* 2013 Aug;9(8):443-58
- [23] Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *The New England journal of medicine* 2009 Jul 2;361(1):11-21 (full text)
- [24] Ruggenenti P. Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II antagonism in nondiabetic chronic nephropathies. *Seminars in nephrology* 2004 Mar;24(2):158-67
- [25] Beck L, Bomback AS, Choi MJ et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2013 Sep;62(3):403-41
- [26] Ruggenenti P, Cravedi P, Chianca A et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2012 Aug;23(8):1416-25 (full text)
- [27] Ruggenenti P, Chiurciu C, Brusegan V et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: a one-year prospective study. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2003 Jul;14(7):1851-7 (full text)
- [28] Fervenza FC, Cosio FG, Erickson SB et al. Rituximab treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Kidney international* 2008 Jan;73(1):117-25
- [29] Fervenza FC, Abraham RS, Erickson SB et al. Rituximab therapy in idiopathic membranous nephropathy: a 2-year study. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2010 Dec;5(12):2188-98 (full text)
- [30] Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2011 Aug;22(8):1543-50 (full text)
- [31] Cravedi P, Ruggenenti P, Sghirlanzoni MC et al. Titrating rituximab to circulating B cells to optimize lymphocytolytic therapy in idiopathic membranous nephropathy. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2007 Sep;2(5):932-7 (full text)
- [32] Cara-Fuentes G, Kairalla JA, Ishimoto T et al. Rituximab in idiopathic nephrotic syndrome: does it make sense? *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2014 Aug;29(8):1313-9
- [33] Kronbichler A, Kerschbaum J, Fernandez-Fresnedo G et al. Rituximab treatment for relapsing minimal change disease and focal segmental glomerulosclerosis: a systematic review. *American journal of nephrology* 2014;39(4):322-30
- [34] Waldman M, Crew RJ, Valeri A et al. Adult minimal-change disease: clinical characteristics, treatment, and outcomes. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2007 May;2(3):445-53 (full text)
- [35] Chun MJ, Korbet SM, Schwartz MM et al. Focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic adults: presentation, prognosis, and response to therapy of the histologic variants. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2004 Aug;15(8):2169-77 (full text)
- [36] Fornoni A, Sageshima J, Wei C et al. Rituximab targets podocytes in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Science translational medicine* 2011 Jun 1;3(85):85ra46 (full text)
- [37] Kemper MJ, Gellermann J, Habbig S et al. Long-term follow-up after rituximab for steroid-dependent idiopathic nephrotic syndrome. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2012 May;27(5):1910-5 (full text)
- [38] Ito S, Kamei K, Ogura M et al. Survey of rituximab treatment for childhood-onset refractory nephrotic syndrome. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2013 Feb;28(2):257-64
- [39] Fernandez-Fresnedo G, Segarra A, González E et al. Rituximab treatment of adult patients with steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2009 Aug;4(8):1317-23 (full text)
- [40] François H, Daugas E, Bensman A et al. Unexpected efficacy of rituximab in multirelapsing minimal change nephrotic syndrome in the adult: first case report and pathophysiological considerations. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2007 Jan;49(1):158-61
- [41] Munyentwali H, Bouachi K, Audard V et al. Rituximab is an efficient and safe treatment in adults with steroid-dependent minimal change disease. *Kidney international* 2013 Mar;83(3):511-6
- [42] Takei T, Itabashi M, Moriyama T et al. Effect of single-dose rituximab on steroid-dependent minimal-change nephrotic syndrome in adults. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2013 May;28(5):1225-32 (full text)
- [43] Bruchfeld A, Benedek S, Hilderman M et al. Rituximab for minimal change disease in adults: long-term follow-up. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2014 Apr;29(4):851-6
- [44] Prytuła A, Iijima K, Kamei K et al. Rituximab in refractory nephrotic syndrome. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2010 Mar;25(3):461-8
- [45] Ravani P, Magnasco A, Edefonti A et al. Short-term effects of rituximab in children with steroid- and calcineurin-dependent nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2011 Jun;6(6):1308-15 (full text)
- [46] Magnasco A, Ravani P, Edefonti A et al. Rituximab in children with resistant idiopathic nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2012 Jun;23(6):1117-24 (full text)
- [47] Sugiura H, Takei T, Itabashi M et al. Effect of single-dose rituximab on primary glomerular diseases. *Nephron. Clinical practice* 2011;117(2):c98-105
- [48] Javaugue V, Karras A, Glowacki F et al. Long-term kidney disease outcomes in fibrillary glomerulonephritis: a case series of 27 patients. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2013 Oct;62(4):679-90
- [49] Syeda UA, Singer NG, Magrey M et al. Anti-glomerular basement membrane antibody disease treated with rituximab: A case-based review. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2013 Jun;42(6):567-72
- [50] Díaz-Lagares C, Croca S, Sangle S et al. Efficacy of rituximab in 164 patients with biopsy-proven lupus nephritis: pooled data from European cohorts. *Autoimmunity reviews* 2012 Mar;11(5):357-64
- [51] Gregersen JW, Jayne DR. B-cell depletion in the treatment of lupus nephritis. *Nature reviews. Nephrology* 2012 Sep;8(9):505-14
- [52] Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus

erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis and rheumatism* 2010 Jan;62(1):222-33

[53] Rovin BH, Furie R, Latinis K et al. Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: the Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study. *Arthritis and rheumatism* 2012 Apr;64(4):1215-26

[54] Condon MB, Ashby D, Pepper RJ et al. Prospective observational single-centre cohort study to evaluate the effectiveness of treating lupus nephritis with rituximab and mycophenolate mofetil but no oral steroids. *Annals of the rheumatic diseases* 2013 Aug;72(8):1280-6

[55] Jónsdóttir T, Zickert A, Sundelin B et al. Long-term follow-up in lupus nephritis patients treated with rituximab--clinical and histopathological response. *Rheumatology (Oxford, England)* 2013 May;52(5):847-55 (full text)

[56] Brouet JC, Clauvel JP, Danon F et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *The American journal of medicine* 1974 Nov;57(5):775-88

[57] De Vita S, Quartuccio L, Isola M et al. A randomized controlled trial of rituximab for the treatment of severe cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis and rheumatism* 2012 Mar;64(3):843-53

[58] Sneller MC, Hu Z, Langford CA et al. A randomized controlled trial of rituximab following failure of antiviral therapy for hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis and rheumatism* 2012 Mar;64(3):835-42

[59] Terrier B, Karras A, Kahn JE et al. The spectrum of type I cryoglobulinemia vasculitis: new insights based on 64 cases. *Medicine* 2013 Mar;92(2):61-8

[60] Saadoun D, Resche Rigon M, Sene D et al. Rituximab plus Peg-interferon-alpha/ribavirin compared with Peg-interferon-alpha/ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2010 Jul 22;116(3):326-34; quiz 504-5 (full text)

[61] Dammacco F, Tucci FA, Lauletta G et al. Pegylated interferon-alpha, ribavirin, and rituximab combined therapy of hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia: a long-term study. *Blood* 2010 Jul 22;116(3):343-53 (full text)

[62] Alberici F, Jayne DR Impact of rituximab trials on the treatment of ANCA-associated vasculitis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2014 Jun;29(6):1151-9

[63] Jones RB, Tervaert JW, Hauser T et al. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *The New England journal of medicine* 2010 Jul 15;363(3):211-20 (full text)

[64] Specks U, Merkel PA, Seo P et al. Efficacy of remission-induction regimens for ANCA-associated vasculitis. *The New England journal of medicine* 2013 Aug 1;369(5):417-27 (full text)

[65] Cartin-Ceba R, Golbin JM, Keogh KA et al. Rituximab for remission induction and maintenance in refractory granulomatosis with polyangiitis (Wegener's): ten-year experience at a single center. *Arthritis and rheumatism* 2012 Nov;64(11):3770-8

[66] Smith RM, Jones RB, Guerry MJ et al. Rituximab for remission maintenance in relapsing antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis and rheumatism* 2012 Nov;64(11):3760-9

[67] Guillevin L, Pagnoux C, Karras A et al. Rituximab versus azathioprine for maintenance in ANCA-associated vasculitis. *The New England journal of medicine* 2014 Nov 6;371(19):1771-80 (full text)

[68] <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01731561> (last access 07 June 2015)

[69] Charles P, Bienvenu B, Bonnotte B et al. Rituximab: Recommendations of the French Vasculitis Study Group (FVSG) for induction and maintenance treatments of adult, antineutrophil cytoplasm antibody-associated necrotizing vasculitides. *Presse medicale (Paris, France : 1983)* 2013 Oct;42(10):1317-30