

RITUXIMAB: QUALE RUOLO NEL TRATTAMENTO DELLE VASCULITI SISTEMICHE ANCA-ASSOCIATE?

Dario Roccatello¹, Alba Vangelista², Antonello Pani³

¹Centro di Ricerche di Immunopatologia e Documentazione su Malattie Rare, Ospedale G. Bosco e Università di Torino, Torino

²Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Ospedale Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

³Struttura Complessa di Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera Brotzu, Cagliari

Riassunto

Una consistente minoranza di pazienti con vasculite dei piccoli vasi ANCA-associata si rivela refrattaria alla terapia convenzionale o sviluppa effetti collaterali che ne limitano il dosaggio. Il Rituximab rappresenta un approccio terapeutico innovativo. È un anticorpo monoclonale chimerico umano/murino geneticamente ingegnerizzato che lega la proteina transmembrana CD20, espressa sui linfociti B. È stato registrato nel 1997 per il trattamento del linfoma non Hodgking a cellule CD20 positive e nel 2006 per il trattamento dell'Artrite Reumatoide.

Vengono discussi, in questa rassegna, i molteplici meccanismi di induzione della deplezione linfocitaria B.

I risultati cumulativi di numerosi studi aperti nel trattamento delle poliangiiti ANCA-associate suggeriscono che, nella grande maggioranza dei casi, il Rituximab ottiene benefici definiti. Due studi randomizzati e controllati confermano questi dati promettenti e suggeriscono che il Rituximab possa essere considerato una valida opzione di trattamento di prima linea nell'induzione della remissione e che si proponga come efficace strumento di terapia delle recidive di malattia vasculitica.

Si stanno accumulando evidenze che il Rituximab, oltre a indurre la deplezione linfocitaria B, possa interferire con la funzione di altri sistemi cellulari coinvolti nella risposta immune, ristabilendo l'omeostasi immune e l'immunotolleranza.

La maggior parte degli effetti collaterali è correlata con le reazioni all'infusione. L'incidenza di effetti collaterali gravi è bassa. Le infezioni costituiscono la complicanza più temibile, talora con esito fatale. È stato, a questo proposito, segnalato un piccolo numero di casi di leucoencefalite multifocale progressiva in pazienti trattati off-label con Rituximab. Nessuno era affetto da vasculite sistemica idiopatica. Tuttavia, questi aspetti sottolineano l'importanza di un'accurata farmacovigilanza.

The role of rituximab in the treatment of ANCA-associated systemic vasculitis

A considerable minority of patients with ANCA-associated small-vessel vasculitis are refractory to conventional therapy or experience dose-limiting side effects. Novel therapeutic approaches include rituximab, a genetically engineered chimeric murine-human monoclonal antibody that binds to CD20, which is expressed on human B cells. It was approved in 1997 for the treatment of CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma and in 2006 for the treatment of rheumatoid arthritis.

The multiple mechanisms proposed for rituximab-mediated B-cell depletion are discussed in this paper.

Cumulative data from several open studies on the treatment of microscopic ANCA-associated polyangiitis suggest that in the vast majority of cases rituximab has a beneficial effect. Two randomized controlled trials confirmed these

Indirizzo degli Autori:

Prof. Dario Roccatello

Centro di Ricerche di Immunopatologia e Documentazione su Malattie Rare (CMID)

Struttura Complessa a Direzione Universitaria di Immunologia Clinica Ospedale G. Bosco

Piazza del Donatore di Sangue 3 10154 Torino

e-mail: dario.roccatello@unito.it

promising results, suggesting that rituximab might be considered as an option for first-line therapy of induction of remission of ANCA-associated vasculitis, and providing an additional tool for treating patients with disease relapse after previous therapy.

While rituximab is very effective in the depletion of B cells, current research suggests it could also influence other immune system cells and reestablish immune homeostasis and tolerance.

The safety profile of rituximab reveals that most reactions are infusion-related and that the incidence of serious side effects is low. Systemic infection remains a major concern and may result in death. A small number of cases of progressive multifocal leukoencephalopathy reported in patients receiving rituximab in off-label use (albeit none with ANCA-associated vasculitis) highlights the importance of pharmacovigilance.

Conflict of interest: None

Parole chiave:

Anticorpo monoclonale ANTI CD20, Rituximab, Vasculiti ANCA-associate

Key words:

ANTI CD20 monoclonal antibody, Rituximab, ANCA-associated vasculitis

INTRODUZIONE (DARIO ROCCATELLO)

Il Rituximab (RTX) è un anticorpo monoclonale chimerico umano/murino specificamente diretto verso la proteina trans-membrana CD 20 dei linfociti B (1), descritta per la prima volta nel 1980 (2).

La regione Fab del Rituximab riconosce una sequenza di 4 aminoacidi su un anello extracellulare della molecola CD 20 (3): il legame del RTX con il CD 20 comporta una significativa deplezione dei linfociti B del sangue periferico (4). Il RTX è stato approvato per il trattamento dei linfomi non Hodgkin a cellule B di basso grado nel 1997. Da allora, è stato impiegato in almeno un milione di pazienti con linfoma non Hodgkin. La grande efficacia e la bassa tossicità della terapia con RTX ne hanno favorito l'estensione dell'impiego nel trattamento delle malattie immuni mediate da meccanismi B cellulari.

Le cellule B derivano da un precursore staminale emopoietico del midollo osseo. Progrediscono in cellule pro-B, pre-B, B immature e B mature, che lasciano il midollo osseo e migrano verso linfonodi, milza e tessuto linfoide mucosale

(5, 6). I linfociti B maturi presentano recettori antigene-specifici che, incontrando il rispettivo antigene, avviano i processi di proliferazione e differenziazione nelle cellule B di memoria "a vita lunga", produttrici di anticorpi, le plasmacellule (6).

Con l'eccezione delle plasmacellule, CD 20 è presente su tutte le cellule B, inclusi i plasmoblasti "a vita breve", fatta eccezione per lo stadio pre-B. Queste cellule rappresentano il *target* del Rituximab.

Sono stati proposti numerosi meccanismi di deplezione B cellulare, mediata dal RTX. Il RTX può indurre il *killing* dei linfociti B, mediato dai linfociti *natural killer*, attraverso meccanismi di citotossicità cellulare anticorpo dipendente (7). È stato dimostrato che questo meccanismo è influenzato dal polimorfismo del recettore FC gamma IIIA-158 che può potenziare la risposta al RTX (8). Il legame diretto dell'anticorpo monoclonale con la proteina CD 20 delle linee cellulari tumorali B può, di per sé, indurre apoptosi (7). I corpi apoptotici delle cellule tumorali B possono essere fagocitati dalla cellule dendritiche e indurre una risposta immunitaria diretta contro

le cellule tumorali stesse. Peraltro, le cellule tumorali possono sviluppare una resistenza a meccanismi di deplezione apoptotica. Il RTX può anche indurre una citotossicità complemento-dipendente (7). La diversa suscettibilità delle cellule B al RTX sembra dipendere soprattutto dall'espressione delle proteine regolatorie del complemento sulle cellule bersaglio, CD 46, CD 55 e CD 59 (9). Una loro sovra-espressione interferisce con l'efficacia del RTX e può contribuire alla farmaco resistenza. Infine, il sistema reticolo-endoteliale può interferire nella *clearance* dei linfociti B apoptotici dopo il legame con il RTX. Dato che i meccanismi che richiedono il reclutamento dei macrofagi e delle cellule *natural killer* hanno tempi di latenza maggiori, la citotossicità complemento-dipendente costituisce la modalità più rapida ed efficace di *killing* linfocitario mediato dal RTX.

Nel 2006, è stato approvato l'impiego del RTX nel trattamento dell'artrite reumatoide non responsiva agli agenti bloccanti il TNF. Diversamente dallo schema ematologico (quattro somministrazioni settimanali di 375 mg/m²), il protocollo raccomandato per l'AR

consiste in due infusioni di 1 g a distanza di 2 settimane, associato alla somministrazione settimanale di *Metotressato* come terapia di potenziamento.

I principali impieghi *off-label* del RTX nelle patologie immuno-mediate sono riassunti nella Tabella I.

Nel 2011, la FDA, sulla scorta di due studi randomizzati controllati (RAVE e RITUXVAS), ha esteso

l'indicazione del RTX alle micro-poliangioiti sistemiche ANCA-associate a fenotipo granulomatoso (poliangioiti granulomatose).

Il trattamento corrente delle micropoliangioiti ANCA-associate è rappresentato da un protocollo intensivo di corticosteroidi e ciclofosfamide. Una consistente minoranza di casi, tuttavia, si rileva refrattaria o manifesta effetti

collaterali che limitano l'impiego della terapia immunosoppressiva tradizionale. Il 50% dei pazienti, specialmente quelli con poliangiite granulomatosa, presentano recidive e i pazienti sopra i 60 anni hanno un tasso di mortalità che a un anno è vicino al 30% (12). Inoltre, la qualità di vita del paziente rimane spesso compromessa per gli effetti devastanti delle terapie

TABELLA I - MALATTIE IMMUNO-MEDIATE CON USO DOCUMENTATO DI TERAPIA CON RITUXIMAB

Lupus Sistemico Eritematoso	Porpora trombocitopenica idiopatica
Vasculiti ANCA-associate	Anemia emolitica autoimmune
Malattie da agglutinine fredde	<i>Graft vs host disease</i>
Pemfigo volgare	Emofilia A
Malattia di Graves	Sindrome di Sjogren primaria
Neuropatia IgM mediata	Porpora trombocitopenica trombotica
Crioglobulinemia	Neuromielite ottica
Dermatomiosite	Nefrite membranosa idiopatica
Sclerosi multipla	Opsoclonio/miocloni
Neutropenia autoimmune	Sindrome da Antifosfolipidi
Neuropatia motoria multifocale	Polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica
Miastenia grave	
Sindrome di Evans	Encefalite cronica focale
Aplasia pura della serie rossa	Angioedema acquisito
Spondilite anchilosante	Orticaria cronica
Pemfigoide bolloso	

TABELLA II - RISULTATI DELLO STUDIO RITUXVAS

Risultati	Gruppo di trattamento		p-value
	Rituximab	Ciclofosfamide	
Risposte sostenute	76% (26/33)	82% (9/11)	0.68
Effetti collaterali	42% (14/33) 31 eventi su 14 pz	36% (4/11) 12 eventi su 4 pz tra i sopravvissuti	0.77
Decessi	18% (6/33)	18% (2/11)	1
Remissione sostenuta	93%	90%	0.8
Recupero funzionale renale (0-12 mesi)	19 mL/m'	15 mL/m'	0.14

steroidi e immunosoppressive.

Il RTX ha rappresentato una delle più interessanti proposte terapeutiche alternative (Tab. II). Impiegato in aperto in numerosi studi (10-18) su pazienti con micropoliangioiti sistemiche refrattarie alle terapie convenzionali o soggetti a effetti collaterali severi che ne limitavano l'impiego, ha mostrato un tasso di risposta media vicina al 90%, seppure con un *range* di variabilità molto ampio (40-100%). Le lesioni granulomatosi hanno mostrato una particolare resistenza al trattamento (13). La maggioranza dei pazienti è stata trattata con il protocollo-linfoma (4 somministrazioni settimanali di 375 mg/m²). Raramente sono stati descritti effetti collaterali di grado severo e la mancata ricomparsa degli anticorpi anticitoplasma dei neutrofili con il ripopolamento linfocitario post-depletivo (abitualmente 6-12 mesi dopo il trattamento con RTX) ha suggerito che, in questi pazienti, il farmaco potesse aver ripristinato una condizione di tolleranza immune.

Questo profilo favorevole del RTX è stato recentemente riportato in uno studio retrospettivo su 65 pazienti con micropoliangioite sistemica ANCA-associata refrattaria, raccolti in quattro centri britannici. I pazienti avevano almeno 6 mesi di osservazione. È stata osservata una remissione completa nel 75% dei casi e 38 di 65 pazienti sono stati ritrattati con RTX. L'84% dei pazienti ritrattati ha avuto una seconda remissione completa (19).

La terapia delle micropoliangioiti ANCA-associate dovrebbe essere adattata alla fase e alla gravità della malattia. Nel 2009, l'EULAR pubblicava alcune raccomandazioni basate sui classici livelli di evidenza estrapolati dalla qualità degli studi a supporto dei singoli trattamenti.

In base a queste raccomandazio-

ni, in fase di induzione nelle malattie severe generalizzate, il trattamento di prima scelta rimane la combinazione di ciclofosfamide e steroidi. In malattie non a rischio di vita o con compromissione d'organo limitata, farmaci immunosoppressori a tossicità più contenuta, come il *metotressato* e il micofenolato mofetile potrebbero costituire una valida alternativa alla ciclofosfamide. Con le riserve sollevate da una recente metanalisi, la plasmaferesi potrebbe costituire uno strumento aggiuntivo nei casi di insufficienza renale severa o di una malattia a rischio di vita. In alternativa (per i casi con creatinina <5 mg/dL) o in aggiunta (per quelli con compromissione renale più severa) alla ciclofosfamide, sulla base dei dati dei recenti studi controllati, può essere considerato il RTX.

I due studi randomizzati controllati RITUXVAS (20) e RAVE (21) hanno dimostrato che il RTX è efficace nell'indurre la remissione nelle micropoliangioiti sistemiche ANCA-associate. Va segnalato che, contrariamente allo studio RAVE, nel RITUXVAS i pazienti del braccio RTX venivano anche trattati con due infusioni di Ciclofosfamide. In entrambi gli studi, ai pazienti venivano somministrati anche boli di Metilprednisolone e Prednisone orale a scalare. Nel *trial* RITUXVAS viene segnalata una remissione per 12 mesi mentre, nel RAVE, la valutazione di remissione è limitata a 6 mesi. Non sono, a oggi, pubblicati dati sul lungo periodo relativi alla durata della remissione nei pazienti dello studio RAVE trattati con il solo RTX.

Verranno presentati due punti di vista sul ruolo ancora controverso del Rituximab nella terapia delle micropoliangioiti ANCA-associate. Non si tratta di opinioni radicalmente dissimili, ma si tratta di una diversa veduta sull'allocazione di questo nuovo approccio

terapeutico nell'algoritmo di trattamento.

TRATTAMENTO TRADIZIONALE: UN FAVOREVOLE BILANCIO COSTO/EFICACIA (ALBA VANGELISTA)

Le micropoliangioiti sistemiche idiopatiche rappresentano un gruppo di malattie potenzialmente mortali, con interessamento di vari organi e tessuti, classificate in rapporto agli aspetti clinici, laboratoristici e morfologici. Il sottogruppo clinicamente più rilevante comprende le vasculiti microscopiche associate alla presenza di anticorpi diretti contro il citoplasma dei neutrofili (ANCA), in particolare la granulomatosi con poliangioite (GPA) (già nota come granulomatosi di Wegener, un eponimo che dovrebbe, nel tempo, essere abbandonato), la micropoliangioite (MPA) sistemica e la sua forma rene-limitata e la sindrome di Churg e Strauss (CSS). L'incidenza annuale di micropoliangioiti in Europa è di 10-20 casi per milione di abitanti. L'incidenza aumenta con l'età, con un picco fra i 65 e i 74 anni (22).

Negli anni '50, le vasculiti microscopiche ANCA-associate erano caratterizzate da un'evoluzione infausta con mortalità a un anno superiore all'80% (23); nella GPA, in particolare, veniva riportata una sopravvivenza media di 5 mesi dalla diagnosi (24). L'impiego degli steroidi ha modificato sostanzialmente la storia naturale di questo gruppo di malattie e, verso la fine degli anni '70, l'introduzione della ciclofosfamide ha coinciso con un ulteriore miglioramento della sopravvivenza (25, 26). Negli anni '80, la scoperta degli ANCA come *marker* sierologici ha ampliato le possibilità diagnostiche, rese più sensibili e precoci, favorendo un tempestivo intervento te-

rapeutico (27, 28).

La glomerulonefrite in corso di vasculite ANCA-associata è caratterizzata, alla microscopia ottica, da lesioni necrotizzanti e dalla presenza di *crescents*. All'immunofluorescenza, la positività per gli immunoreattanti è modesta o assente, configurando il cosiddetto "pattern pauciimmune".

È stato di recente validato un sistema classificativo fondato su quattro categorie: forma "focale", quando è coinvolto meno del 50% dei glomeruli, forma "extracapillare", in cui oltre il 50% dei corpuscoli di Malpighi presenta semilune cellulari, forma "mista", con una combinazione di glomeruli normali, con semilune e sclerotici, e forma "sclerotica", con più del 50% dei glomeruli in scleroialinosi (29).

La sopravvivenza a un anno variava dal 93% in pazienti con forma focale al 50% per la categoria "sclerotica". Dopo 5 anni, la percentuale di sopravvivenza renale era del 93% e del 25%, rispettivamente.

La percentuale di glomeruli normali o con lesioni floride (in particolare semilune cellulari e necrosi fibrinoide) rappresenta parametri morfologici predittivi di evoluzione favorevole a breve e a lungo termine. Un'elevata percentuale di glomeruli in sclerosi e la presenza di semilune fibrose, di atrofia tubulare, di infiltrati e di fibrosi interstiziale sono associate a una prognosi renale negativa (30).

Un parametro importante ai fini della valutazione prognostica è rappresentato dall'età dei pazienti, la cui sopravvivenza peggiora se la malattia è iniziata dopo i 60 anni (23). L'età è correlata anche all'entità della contrazione del filtrato alla diagnosi.

In conclusione, lesioni istologiche renali, età dei pazienti e funzione renale all'esordio rappresentano parametri importanti nella

scelta del trattamento.

Il trattamento delle vasculiti microscopiche può essere suddiviso in quattro fasi: diagnosi, terapia di induzione della remissione nella fase attiva della malattia, terapia di mantenimento e trattamento a lungo termine (30).

La diagnosi è frequentemente intempestiva, con un ritardo medio dai primi sintomi di tre mesi, soprattutto in assenza di manifestazioni extrarenali. La prognosi a distanza è strettamente correlata al grado di compromissione d'organo al momento della diagnosi. Una diagnosi precoce risulta, pertanto, di importanza prognostica fondamentale.

Obiettivi del trattamento sono il controllo dell'attività della malattia e la prevenzione delle recidive (31), minimizzando i rischi dell'immunosoppressione in acuto e, tardivamente, le sequele cardiovascolari, l'osteoporosi e le neoplasie (32, 33).

Il Rituximab è stato proposto in due studi randomizzati controllati come possibile alternativa agli immunosoppressori tradizionali nella fase di induzione.

PROTOCOLLI TERAPEUTICI UTILIZZATI NELL'INDUZIONE DELLA REMISSIONE

Ciclofosfamide e steroidi

La terapia *standard* di induzione con ciclofosfamide (Endoxan) e steroidi induce la remissione nel 75-90% dei casi (30). Nel protocollo di somministrazione orale continua, la ciclofosfamide viene somministrata alla dose di 2 mg/kg/die (con un massimo di 200 mg/die) per 3-6 mesi. Il dosaggio viene ridotto del 25% in soggetti di età superiore ai 60 anni e del 50% nei soggetti di età superiore ai 75 anni (33). Alla ciclofosfamide si associano, generalmente,

1-3 boli da 10-15/mg/kg di metilprednisolone, seguiti da 1 mg/kg/die di prednisone con una riduzione progressiva fino a 0.25 mg/kg/die dopo 8 settimane.

Nel protocollo di somministrazione e.v. la ciclofosfamide viene ciclicamente somministrata al dosaggio di 15 mg/kg (massimo 1.2 g) a intervalli diversi secondo i protocolli. Una modalità relativamente intensiva prevede una somministrazione ogni 2 settimane per i primi tre boli, seguiti dall'infusione ogni tre settimane per i successivi 3-6 boli. Il dosaggio deve essere modificato in rapporto all'età e alla funzione renale (33).

Nei pazienti trattati con ciclofosfamide in boli, dovrebbe essere somministrato Mesna che si lega all'acroleina, un metabolita tossico della ciclofosfamide, inibendone la tossicità. Si suggerisce altresì (soprattutto nella GPA) la profilassi contro l'infezione da *Pneumocystis jirovecii* (Carinii) con trimetoprim/sulfametossazolo (800/160 mg a giorni alterni o 400/80 mg/die) (33).

Nei pazienti trattati con boli, in cui la dose cumulativa di farmaco risulta inferiore, il rischio di recidiva è aumentato, mentre è minore il rischio di infezioni (34).

Plasmaferesi, immunoassorbimento e linfocitaferesi

Nonostante l'efficacia della terapia immunosoppressiva associata agli steroidi, le vasculiti ANCA-associate presentano ancora un alto tasso di insufficienza renale cronica terminale e di mortalità, soprattutto in pazienti con severe lesioni glomerulari e insufficienza renale alla diagnosi (35).

La plasmaferesi in aggiunta alla terapia di base nella fase acuta della malattia (6-10 sedute nelle prime due settimane dalla diagnosi con scambi di 40-60 mL/kg/seduta) è generalmente ritenuta in grado di

migliorare la sopravvivenza renale e di ridurre la necessità di trattamento dialitico a 3 e a 12 mesi in soggetti con severa insufficienza renale (creatinina plasmatica >5 mg/dL) al momento della diagnosi. La plasmaferesi è particolarmente indicata nei pazienti con emorragia polmonare (34).

Una recente metanalisi comprendente 9 studi randomizzati, condotti fra il 1981 e il 2007, che includevano 387 pazienti con vasculite ANCA-associata sistemica o rene-limitata, 201 dei quali trattati con plasmaferesi, non ha, tuttavia, potuto concludere che la plasmaferesi in aggiunta alla terapia tradizionale riduca l'incidenza di insufficienza renale terminale e la mortalità complessiva (36).

I pazienti randomizzati al trattamento con *immunoassorbimento* o con plasmaferesi in aggiunta alla terapia con ciclofosfamide e prednisone non hanno mostrato differenze di mortalità, richiesta di dialisi e recupero della funzione renale (37).

In uno studio randomizzato su una piccola coorte di pazienti, l'uso di *linfocitaferesi* non dimostrava una sicura efficacia clinica (38).

Immunoglobuline endovena (IGV)

Nella pratica clinica, l'impiego delle IGV come terapia rescue delle micropoliangioiti ANCA-associate (39, 40) è limitato ai casi intolleranti alla terapia convenzionale o alle condizioni di rischio di sovrapposizione infettiva. In letteratura, risulta un solo studio clinico randomizzato, in cui 34 pazienti (24 con WG e 10 con MPA) ricevevano IGV (0.4 g/kg/die) o placebo (41). Tutti erano stati precedentemente trattati per due mesi con prednisolone e ciclofosfamide o azatioprina e proseguivano con questi farmaci per almeno 3 mesi dopo le IGV. Una remissione

completa o parziale si osservava nell'82% dei pazienti trattati con IGV e nel 35% del gruppo placebo. Tuttavia, l'effetto positivo (controllo dell'attività della vasculite, frequenza delle recidive, necessità di immunosoppressori) non si estendeva oltre i tre mesi. Le IGV potrebbero avere un ruolo come terapia aggiuntiva nelle vasculiti ANCA-associate refrattarie al trattamento convenzionale o nei casi in cui sia controindicato l'impiego di immunosoppressori (42).

Metotressato

Il metotressato (20-25 mg/settimana, orale o parenterale) è stato impiegato nella terapia di induzione della remissione in alternativa alla ciclofosfamide, soprattutto in pazienti con malattia sistemica meno severa e funzione renale normale (43). Il farmaco dovrebbe essere iniziato alla dose di 15 mg/settimana e aumentato, se tollerato, a 20-25 mg/settimana in 1-2 mesi. Rispetto alla ciclofosfamide, si associa a una minore incidenza di effetti collaterali, ma è meno protettivo nei confronti della recidiva. Il metotressato è, inoltre, relativamente controindicato nei soggetti con insufficienza renale, per l'aumentato rischio di tossicità midollare (33).

Rituximab

A tutt'oggi due sono gli studi prospettici, controllati e randomizzati riportati in letteratura e pubblicati sullo stesso numero del *New England Medical Journal* sull'impiego del Rituximab nelle vasculiti ANCA-associate: RITUXVAS (20), da parte del gruppo di studio europeo sulle vasculiti, e RAVE (21), da parte del gruppo di studio sull'uso del rituximab nelle vasculiti ANCA-associate. In entrambi gli studi, sono stati analizzati sia l'ef-

ficacia del Rituximab per l'induzione della remissione che gli effetti a lungo termine (recidiva dei segni di attività della malattia, effetti collaterali, percentuale di decessi) e sono stati messi a confronto con la terapia tradizionale a base di ciclofosfamide associata a steroidi. Nello studio RITUXVAS, il Rituximab veniva somministrato alla dose di 375 mg/m²/settimana per 4 settimane consecutive, associato a ciclofosfamide e.v. (15 mg/kg alla prima e alla terza settimana di somministrazione di Rituximab). Nel gruppo di controllo veniva somministrata ciclofosfamide e.v. secondo gli usuali protocolli validati (30). Nello studio RAVE, il Rituximab veniva somministrato, in assenza di ciclofosfamide, allo stesso dosaggio e per lo stesso periodo; nel gruppo di controllo veniva somministrata ciclofosfamide per os (2 mg/kg/die, aggiustata in base alla funzione renale). In entrambi i gruppi, veniva somministrato metilprednisolone in tre boli consecutivi di 1 g, seguiti da prednisone, 1 mg/kg/die, progressivamente ridotto.

Nello studio RITUXVAS, gli Autori concludono che "la terapia con Rituximab non è risultata superiore alla terapia *standard* con ciclofosfamide e.v. nelle forme severe di vasculiti ANCA-associate. Il tasso di remissione è risultato elevato in entrambi i gruppi e la terapia con Rituximab non si è associata a una riduzione di effetti collaterali severi".

Nello studio RAVE, "la terapia con Rituximab non è risultata inferiore al trattamento con ciclofosfamide per os nell'induzione della remissione. Inoltre, può risultare superiore al trattamento *standard* nella recidiva della malattia".

Un editoriale nello stesso numero della rivista (44) sottolinea come "l'efficacia dell'attuale armamentario terapeutico consenta

una riduzione dell'attività della malattia, ma a rischio di effetti collaterali anche gravi. Gli eventi avversi associati a molti degli agenti biologici oggi disponibili, compresi i farmaci anti-CD20, presentano il rischio di leucoencefalopatia progressiva multifocale (45) e un aumento del rischio complessivo di infezioni. Lo stesso editoriale conclude che "per ora gli studi RITUXVAS e RAVE portano la speranza che una terapia mirata possa sconfiggere questa malattia autoimmune sostenuta dalle cellule B".

In una lettera successiva, Hebert et al. (46) commentano che "gli studi RAVE e RITUXVAS forniscono una plausibile evidenza dell'efficacia del Rituximab nelle vasculiti ANCA-associate, ma che periodi più prolungati di *follow-up* sono necessari per precisare il reale valore del Rituximab e se si tratti di un buon valore", considerando il costo elevato rispetto alla ciclofosfamide (46).

In Italia, Mabthera ha un costo di 2.175,78 Euro per un flacone di 500 mg e di 870,48 euro per 2 flaconi di 100 mg. L'Endoxan ha un costo di 7,61 euro per 1 gr di polvere per soluzione iniettabile, di 4,50 euro per 500 mg e di 10,36 euro per una confezione di 50 cp da 50 mg.

FARMACI UTILIZZATI NELLA TERAPIA DI MANTENIMENTO

Dato che nel 50% circa dei pazienti con micropoliangioite sistemica ANCA-associata si verifica una recidiva della malattia entro 5 anni dalla diagnosi e la tossicità dei farmaci è elevata, risulta prioritario l'uso di terapie efficaci e contemporaneamente sicure (47). Nei protocolli più frequentemente utilizzati, dopo l'induzione della remissione, generalmente ottenu-

ta in tre mesi, la ciclofosfamide viene sostituita da azatioprina o metotressato. La terapia viene continuata per almeno 18 mesi (46). Recenti Linee Guida della Società Britannica di Reumatologia suggeriscono di proseguire la terapia per almeno 24 mesi (49), poiché una sospensione precoce si associa a un aumentato rischio di recidiva, soprattutto nella granulomatosi con poliangioite (48). Nei pazienti in cui persiste la positività per ANCA dopo la terapia di induzione, il rischio di recidiva è quattro volte superiore rispetto ai pazienti che diventano ANCA negativi (50). In generale, pazienti trattati con una terapia di induzione più potente tendono ad avere una minore incidenza di recidive alla riduzione o alla sospensione della terapia (51). La ciclofosfamide per os è stata utilizzata anche nella terapia di mantenimento, ma la tossicità elevata ne sconsiglia l'uso a lungo termine. L'azatioprina (2 mg/kg/die) risulta più sicura della ciclofosfamide e altrettanto efficace nel prevenire le recidive a 18 mesi. Nel confronto fra azatioprina e metotressato (0.3 mg/kg/settimana, con un aumento progressivo fino a 25 mg/settimana) non sono risultate differenze significative sia per gli *end-point* primari (reazioni avverse causa di decesso e/o di sospensione dello studio) che per quelli secondari (eventuali effetti collaterali, recidive, sopravvivenza, qualità della vita) (34). Occorre, peraltro, ricordare che il metotressato è poco maneggevole nei pazienti con funzione renale ridotta (creatinina plasmatica >1.5 mg/dL).

La leflunomide (ARAVA) è un inibitore selettivo della biosintesi pirimidinica "de novo", comunemente utilizzato in pazienti con artrite reumatoide o artrite psoriasica. Nella granulomatosi con poliangioite è stata impiegata in alterna-

tiva al metotressato, dimostrando una maggiore efficacia in termini di mantenimento della remissione, ma con più frequenti effetti collaterali (diarrea, alopecia, aumento degli enzimi epatici, ipertensione arteriosa) (52).

In un recente lavoro del Gruppo di Studio Europeo sulle Vasculiti (EUVAS), comprendente 42 Centri in 11 Paesi per un totale di 156 pazienti, è stato effettuato un confronto di *safety* e di efficacia nel mantenimento della remissione fra micofenolato mofetile e azatioprina (47). L'azatioprina è somministrata alla dose di 2 mg/kg/die (fino a un massimo di 200 mg), ridotti a 1.5 mg/kg dopo un anno e a 1 mg/kg dopo 18 mesi, con sospensione a 42 mesi. La dose iniziale di micofenolato era di 2 g/die, ridotto a 1.5 g/die dopo 12 mesi, 1 g/die dopo 18 mesi e, di nuovo, con sospensione a 42 mesi. L'attività della malattia veniva valutata sulla base del *Birmingham Vasculitis Activity Score* (53). I risultati a distanza dimostravano che le recidive erano più frequenti nel gruppo trattato con micofenolato (42% contro 37% nel gruppo trattato con azatioprina); il dosaggio di prednisolone era equivalente nei due gruppi e non si osservavano differenze significative negli *end-point* secondari. Gli Autori concludono che, anche se il suo impiego può essere preso in considerazione in casi refrattari, il micofenolato mofetile non dovrebbe rappresentare una prima scelta nella terapia di mantenimento (47).

In termini di costi, il prezzo del micofenolato mofetile è di 188,25 euro per una confezione da 50 compresse da 500 mg. Il prezzo dell'azatioprina è di 14,73 euro per una confezione di 50 compresse da 50 mg.

RITUXIMAB: UN TRATTAMENTO INNOVATIVO VALIDATO (ANTONELLO PANI)

In questi ultimi anni, è stato enfatizzato il ruolo dei linfociti B nella patogenesi delle vasculiti sia per la loro funzione regolatoria della risposta immune che per la produzione di autoanticorpi ANCA, il cui ruolo patogenetico è diffusamente condiviso (54). Gli ANCA correlano con l'attività della malattia e con la percentuale di linfociti B periferici attivati (55, 56). In corso di GPA, si riscontrano linfociti CD20 positivi e cellule B memoria autoreattive con affinità per l'antigene ANCA. Linfociti CD20 positivi e cellule B memoria autoreattive con affinità per l'antigene ANCA sono evidenziabili nel contesto di formazioni simil-follicolari (57, 58). La ciclofosfamide (CYC), *gold standard* del trattamento delle micropoliangioiti sistemiche, sopprime attivazione, proliferazione e differenziazione delle cellule B autoreattive (59).

Recentemente, studi in aperto hanno suggerito che il Rituximab (RTX), un anticorpo monoclonale anti-CD20, possa indurre la remissione nelle vasculiti ANCA-associate (10, 11, 60). Ulteriori evidenze dell'efficacia del RTX si sono avute tra il 2006 e il 2009. Queste esperienze hanno mostrato che la terapia con RTX induce una remissione prolungata nell'80-90% dei pazienti affetti da vasculiti ANCA-correlate refrattarie (12-17, 61).

Di 108 pazienti ANCA/PR 3 positivi di una casistica non pubblicata della Mayo Clinic di Rochester (USA), che, non inclusi in *trial* randomizzati, sono stati seguiti per 10 anni dopo aver ricevuto almeno un ciclo di terapia con RTX entrando in remissione (B-VAS/WG=0), 53 (circa il 45.6%) ricevettero una mediana di 4 cicli di RTX (375

mg/m²) per quattro settimane con un totale di 200 cicli (62). Tutte le recidive sono avvenute dopo la ricostituzione delle cellule B e sono state accompagnate o precedute da un incremento del titolo degli ANCA, eccetto in un caso. Settantadue cicli di terapia (34%) sono stati effettuati prima della comparsa clinica dei sintomi, cogliendo il momento della ricostituzione dei linfociti B circolanti o il contestuale aumento dei linfociti B circolanti e dei livelli degli ANCA. Durante i periodi di deplezione linfocitaria, sono state osservate 8 complicanze infettive (5 infezioni del tratto respiratorio superiore, 2 polmoniti, una delle quali ha richiesto l'ospedalizzazione, e un'infezione cutanea). Sulla base di questi dati, il RTX sembra efficace e sicuro nell'indurre e nel mantenere la remissione dei pazienti con micropoliangioite sistemica recidivante. Una prolungata deplezione delle cellule B non sembra associata a un elevato rischio di infezione.

Due recenti lavori pubblicati sul *New England Journal of Medicine* nel Luglio 2010 hanno valutato l'efficacia del RTX nell'indurre una remissione in pazienti con gravi forme di micropoliangioite ANCA-associata (20, 21).

Il lavoro dell'*European Vasculitis Study Group* - RITUXVAS ha visto la partecipazione di 8 Centri europei in uno studio *open-label* che ha randomizzato 44 pazienti assegnati ai due gruppi di trattamento (RTX vs ciclofosfamide) con rapporto 3:1 (21). Tutti i pazienti presentavano una grave forma di micropoliangioite ANCA-associata all'esordio e non erano mai stati trattati con altre terapie. Dei 33 pazienti del gruppo RTX, 6 sono deceduti prima dei 12 mesi, mentre, degli 11 del gruppo CYC, uno è deceduto prima dei 12 mesi e un altro al 20° mese. Perciò, tutti i 33 pazienti del gruppo RTX e gli 11

controlli sono stati inclusi nell'analisi, anche se solo 27 pazienti del primo gruppo e 10 del secondo hanno proseguito il *trial* fino al dodicesimo mese. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a biopsia renale anche solo in presenza di microematuria (>30 emazie/campo microscopico) e/o cilindruria. Non vi erano significative differenze per età, sesso, diagnosi, *pattern* degli ANCA, filtrato glomerulare (GFR) e numero di organi coinvolti tra i due gruppi anche se, nel gruppo RTX, vi era un maggior numero di pazienti affetti da GPA, con *pattern* C-ANCA all'immunofluorescenza. Non vi era alcuna differenza tra i due gruppi per B-VAS score, PCR, VES e numero di trattamenti plasmateretici. Tutti i pazienti dei due gruppi furono trattati con steroidi per os, cui erano associate infusioni settimanali di RTX 375 mg/m² x 4 settimane + 2 Boli quindicinali di CYC e.v. nel gruppo RTX e Boli di CYC per 3-6 mesi seguiti per altri 6 mesi da Azatioprina per os. L'*end-point* primario era la "remissione sostenuta" valutata con il B-VAS score.

Come mostra la Tabella II, i risultati sono equivalenti con una risposta alla terapia in circa l'80% dei pazienti nella fase acuta e una remissione protratta nel 90%. Effetti collaterali, rilevati in circa il 40% dei casi, e mortalità (18%) erano comparabili. Entro dodici mesi si è avuto un parziale recupero della funzione renale pari a circa 15 e 19 mL/min rispettivamente nel gruppo RTX e ciclofosfamide. Tale risposta ha consentito una più rapida riduzione degli steroidi nel gruppo RTX, fino a circa 0.3 mg/kg/die, entro la tredicesima settimana con B-VAS score <5 dopo la sesta settimana nei due gruppi.

Da sottolineare che, nel gruppo RTX, era incluso un maggior numero di pazienti con necessità di dialisi all'esordio (8 pazienti, 24%)

rispetto al gruppo di controllo (1 solo paziente, 9%). Di questi 8 pazienti, 6 hanno avuto una remissione protratta e 5 hanno recuperato una funzione renale indipendente. Non c'era nessuna differenza tra i due gruppi nella percentuale di remissione totale: il B-VAS score era pari a 0 a due mesi nel 91% dei pazienti. Non c'erano differenze statisticamente significative per la percentuale di relapse pari al 15% e al 10% rispettivamente nel gruppo RTX e nel gruppo di controllo. In conclusione, lo studio RITUXVAS ha dimostrato, a dodici mesi, la non inferiorità del RTX rispetto alla ciclofosfamide con un'alta percentuale di remissioni protratte.

Il secondo lavoro (20) è un *trial* controllato, prospettico, randomizzato e multicentrico, con rapporto 1:1 e bilanciato per il tipo di ANCA. Centonovantasette pazienti sono stati arruolati in tre anni e mezzo (99 nel gruppo RTX e 98 nel gruppo CYC) e la maggior parte di essi (84 nel gruppo RTX e 81 nel gruppo CYC) ha completato sei mesi di trattamento. I rimanenti hanno avuto uno o più eventi avversi e si è reso necessario escluderli dallo studio, anche se, in tutti i 197 casi, i dati erano utilizzabili per l'analisi primaria. Cinque pazienti hanno sospeso volontariamente la terapia (1 nel gruppo RTX e 4 nel gruppo CYC) per non avere raggiunto l'*end-point* primario durante il periodo di cura. I due gruppi sono stati ottimamente bilanciati avendo lo stesso numero di pazienti affetti da GPA (# 74) e da poliangiite microscopica a fenotipo non granulomatoso (# 24). Un paziente del gruppo RTX e due pazienti del gruppo CYC sono deceduti. Novantanove pazienti nel gruppo RTX e 98 nel gruppo CYC sono stati inclusi nelle analisi complessive.

Il gruppo di pazienti trattato con RTX è stato sottoposto a terapia

con 375 mg/m²/settimana per 4 settimane. Il gruppo di confronto è stato trattato con CYC per os alla dose di 2 mg/kg/die, aggiustata per il grado di insufficienza renale, seguita da Azatioprina 2 mg/kg/die dopo 3-6 mesi. I pazienti di entrambi i gruppi sono stati sottoposti a terapia con tre boli di Metilprednisolone da 1 g, seguiti da prednisone 1 mg/kg/die ridotto e poi sospeso in cinque mesi. Inoltre, è stato somministrato placebo a gruppi invertiti per sottoporre entrambi i gruppi a terapia orale ed endovena contemporaneamente, in modo da non consentire l'identificazione del gruppo di assegnazione. Oltre che per la malattia di base, le caratteristiche cliniche dei due gruppi erano sovrapponibili per età (50 anni), sesso, etnia, nuova diagnosi prima dell'arruolamento (circa 48%) e per il tempo della storia clinica (tra i 5.5 e i 6.5 anni) precedente l'arruolamento con circa il 75-80% di casi non di nuova diagnosi già sottoposti a pregressa terapia con CYC. Gli score di attività della malattia, valutati con il B-VAS/WG, il *physician's global assessment*, il *vasculitis damage index* e un *test* di valutazione del benessere soggettivo, l'SF36, nonché il coinvolgimento d'organo, sono risultati sovrapponibili nei due gruppi. La funzione renale era peggiore nei pazienti assegnanti al gruppo RTX (*clearance* della creatinina di 54 mL/min vs 69 mL/min del gruppo CYC; p=0.04), mentre non vi erano differenze per il coinvolgimento neurologico, per il tipo e la positività degli ANCA e per la dose media di steroidi somministrata nei 14 giorni prima del consenso del paziente. I due gruppi, infine, avevano lo stesso numero di pazienti affetti da quadri gravi di malattia renale o da emorragie polmonari. La Tabella III mostra i risultati dello studio RAVE. Il 64% dei pazienti

del gruppo RTX e il 53% dei pazienti del gruppo CYC hanno raggiunto l'*end-point* primario, cioè la remissione della malattia con B-VAS/WG score pari a zero alla fine dei sei mesi di trattamento, con la sospensione completa del cortisone. È stata, così, dimostrata la non inferiorità del RTX rispetto alla CYC nell'indurre la remissione della fase acuta nelle vasculiti ANCA-correlate (p=0.001). Per la terapia delle recidive, il RTX ha indotto una remissione nel 67% dei pazienti trattati contro il 42% delle CYC (p=0.01), dimostrandosi superiore per efficacia.

Il numero totale di effetti collaterali, sia minori che maggiori, a includere decessi, tumori, leucopenia, infezioni, cistite farmaco indotta, trombosi venosa profonda, *stroke* e, perfino, le reazioni da infusione del farmaco, è risultato identico.

Il monitoraggio della conta dei CD19 periferici ha consentito di evidenziare una loro più rapida caduta entro i primi 15 giorni con valori persistentemente più bassi nei 180 giorni di osservazione, dopo la randomizzazione, nel gruppo dei pazienti trattati con RTX.

Va segnalato che, dallo studio, sono stati esclusi i pazienti ANCA negativi, le forme limitate di WG e i pazienti più gravi, cioè quelli con creatininemia maggiore di 4 mg/dL all'esordio o quelli con necessità di assistenza respiratoria.

Un confronto tra i due studi (Tab. III) ci consente di affermare che il *trial* RAVE è il più numeroso e quello meglio bilanciato, ma che lo studio RITUXVAS include malati molto più gravi per compromissione renale e polmonare. Entrambi dimostrano la non inferiorità del RTX rispetto alla CYC. Inoltre, nello studio RAVE, il RTX risulta superiore nell'indurre la remissione delle recidive (67% vs 42%). Fermezza (62), a proposito dello stu-

TABELLA III - CONFRONTO DI DUE STUDI RANDOMIZZATI

	Rituxvas		Rave	
Metodi	Randomizzato 3:1 <i>Open label</i> Due gruppi <i>Parallel designed trial</i>		Randomizzato 1:1 Doppio cieco <i>Double dummy</i> <i>Trial di non inferiorità</i>	
Numero di pazienti	44		197	
Criteri di inclusione	AAV con coinvolgimento renale di nuova diagnosi		AAV di nuova diagnosi (49%) o con recidive severe (51%)	
Tipo di vasculite	GW: 22 MPA: 16 Vasculite limitata al rene: 6		GW: 148 MPA: 48 Indeterminata: 1	
	RTX	Cyc	RTX	Cyc
BVAS	19 (14-24)	18 (12-25)	8.5±3.2	8.2±3.2
GFR calcolato	20 (5-44)	12 (9-33)	53.8±29.8	68.9±41.6
ANCA (immunofluorescenza)	20 c-ANCA 13 p-ANCA	5 c-ANCA 6 p-ANCA	66 c-ANCA 33 p-ANCA	62 c-ANCA 34 p-ANCA
Terapia di induzione	RTX + Cyc + GCS	Cyc + GCS	RTX + GCS	Cyc + GCS
Terapia di mantenimento	Basse dosi di GCS	AZA (2 mg/kg/die) + basse dosi di GCS	Placebo	AZA
Metilprednisolone, g	1-2		1-3	
Dose <i>target</i> di glucocorticoidi	5 mg a sei mesi		0 mg a 6 mesi	
Profilassi antibiotica	Raccomandata		Obbligatoria	
<i>End-point</i> primario	Percentuale di remissione sostenuta a 12 mesi ed eventi avversi importanti		Remissione completa e riduzione del prednisone in 6 mesi	
Eventi avversi severi	Simili in entrambi i gruppi (42% RTX; 36% controlli)		Più eventi avversi nel gruppo trattato con CYC	
Outcomes	La terapia con RTX non è risultata superiore a quella con Cyc. La remissione sostenuta è stata ottenuta nel 76% (25/33) dei pazienti trattati con RTX e nell'82% (9/11) dei pazienti trattati con Cyc (p=0.68)		La terapia con RTX non è risultata inferiore a quella con Cyc per l'induzione della remissione. L' <i>end-point</i> primario è stato raggiunto nel 64% (63/99) del grup- po RTX e nel 53% (52/98) del gruppo Cyc (p<0.001)	
Efficacia nella malattia recidivante	Non testata		RTX superiore alla Cyc	
Riacutizzazioni severe	Non riportate		RTX 6, Cyc 10	

dio RAVE, di cui è co-Autore, sottolinea che: 1) in questo *trial* c'è una maggiore percentuale di pazienti che raggiunge l'*end-point* primario nel gruppo RTX rispetto al gruppo CYC, ma tale superiorità non è statisticamente significativa; 2) il 71% dei pazienti nel gruppo RTX vs il 62% dei pazienti nel gruppo CYC raggiungono l'*end-point* secondario di mantenere la remissione con un dosaggio inferiore o uguale a 10 mg/die di prednisone indicando, però, che la sospensione degli steroidi dopo sei mesi può portare a una quota di remissione infe-

riore e non può essere raggiunta in tutti i pazienti; 3) l'uso del RTX potrebbe evitare nel lungo termine la tossicità cumulativa della CYC, soprattutto nei pazienti tendenzialmente meno responsivi e/o resistenti e in quelli con frequenti recidive; 4) nello studio RAVE la dose cumulativa di steroidi somministrata a entrambi i gruppi non è superiore ad altri *trial* clinici e tale dose è simile nei due gruppi ma è tendenzialmente inferiore nel gruppo RTX; 5) nello studio RAVE gli effetti collaterali sono simili nei due gruppi ma, se si analizzano

gli effetti collaterali definiti come quelli derivanti dal protocollo, la loro incidenza è significativamente inferiore nel gruppo RTX rispetto al gruppo CYC (22 vs 32 pazienti; p=0.01); 6) nei pazienti del gruppo CYC c'è una maggiore incidenza di leucopenia; 7) dei sette pazienti che hanno sviluppato un tumore più della metà aveva già ricevuto precedentemente multipla terapia IS; 8) dopo il ciclo di RTX, mantenere la remissione senza dover assumere un'altra terapia immunosoppressiva non significa che i pazienti non rimangano im-

munodepressi, almeno finché persiste la deplezione B linfocitaria.

Nell'editoriale di accompagnamento dei due studi controllati (44), Falk e Jennette pongono la questione pratica se la CYC debba essere associata al RTX per garantire una remissione duratura e se, in rapporto con l'osservazione precedente, nel medio-lungo periodo (superiore ai sei mesi dello studio RAVE), il RTX da solo sia in grado di controllare la malattia. Falk e Jennette sottolineano anche, in relazione allo studio RITUXVAS, che, anche se in percentuale statisticamente non dissimile rispetto al gruppo di controllo (18%), 6 decessi su 33 pazienti nel gruppo RTX rappresentano un dato di mortalità non trascurabile. Infine, secondo gli stessi Autori, gli effetti collaterali totali riscontrati in egual misura nei due gruppi dello studio RAVE potrebbero riflettere la maggiore tossicità della CYC orale, lasciando supporre che un gruppo di controllo trattato con CYC e.v. avrebbe potuto presentare minori effetti avversi. Falk e Jennette concludono che: 1) il RTX potrebbe essere considerato come un'opzione di terapia di prima linea per l'induzione della remissione delle vasculiti sistemiche ANCA-associate; 2) lo studio RAVE indica con chiarezza la superiorità del RTX nell'indurre la remissione delle recidive delle AAV rispetto alla CYC; 3) un importante quesito ancora non risolto dai due *trial* è se la terapia anti cellule B consentirà nel lungo termine di mantenere in remissione prolungata la vasculite, nonostante la sospensione o la marcata riduzione della restante terapia.

In conclusione, sulla base della vasta esperienza di studi non controllati e sulla base dei *trial* RAVE e RITUXVAS, il RTX è efficace quanto la CYC per la terapia iniziale di WG e di MPA, ma è superiore alla CYC nel trattamento delle recidive

con analoghi effetti collaterali nel breve termine, ma con il vantaggio di consentire la sospensione degli steroidi dopo cinque mesi di terapia e, se i CD20 rimangono soppressi, di evitare il ricorso a ulteriori terapie nel *follow-up* a medio termine. Tale regime sembra, quindi, rappresentare una valida alternativa alla CYC nel trattamento delle vasculiti ANCA-associate. Stante tuttavia la breve durata del *follow-up* degli studi controllati, alcuni *opinion leader* continuano a preferire l'uso della CYC come terapia di prima linea e riservano l'impiego del RTX alle recidive o ai pazienti che non possono assumere o che rifiutano la somministrazione della CYC.

Rimangono aperti alcuni quesiti:

1. Dall'analisi comparativa dei *trial* RITUXVAS e RAVE emerge che tutti i pazienti dello studio RITUXVAS sono diventati ANCA negativi dopo la terapia con RTX, mentre solo la metà dei pazienti dello studio RAVE ha avuto risultati simili. Questo significa che l'associazione RTX+CYC è più efficace?

2. L'associazione RTX+CYC dello studio RITUXVAS ha comportato una mortalità del 18%, risultato dell'impiego di un regime terapeutico più tossico o del reclutamento di pazienti più anziani con una forma di vasculite più grave? Lo studio RAVE, di per sé, suggerisce, però, che, per essere efficace nella cura delle vasculiti ANCA-associate, il RTX non ha necessità di essere abbinato alla CYC.

3. Qual è il dosaggio più corretto del RTX (375 mg/m²/settimana per 4 settimane o 1 g ogni due settimane per 2 settimane)?

4. Il RTX può essere utile impiegato anche nelle vasculiti ANCA negative?

5. Può il RTX essere usato come farmaco di prima scelta, come nel-

lo studio RITUXVAS, nei pazienti più gravi, con creatinina >4 mg/dL e/o con emorragie polmonari e/o con necessità di assistenza respiratoria e/o di dialisi all'esordio della malattia dove trova indicazione la plasmaferesi?

La complicanza più temuta: la leucoencefalopatia multifocale

Un evento avverso associato ai trattamenti immunosoppressivi tradizionali e anche ad alcuni farmaci biologici, incluso il Rituximab, è l'aumentato rischio di leucoencefalopatia multifocale (44). Fervenza, in un editoriale sull'impiego del Rituximab nelle vasculiti ANCA-associate (62), sottolinea che, a fronte di 2 casi di PML fatali in pazienti con LES trattati con RTX, ne è stata segnalata una ventina sottoposta ad altre terapie e che circa la metà dei 12 casi di PML segnalati nel corso delle vasculiti ANCA-correlate non era stata trattata con RTX. Questi dati suggeriscono che la PML non sia una complicanza specifica di un particolare farmaco bensì un'espressione di immunodepressione in pazienti affetti da malattie reumatiche, in particolare da LES, perpetuato per molti anni.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE (DARIO ROCCATELLO)

Può il RTX essere considerato un'opzione di prima linea per l'induzione della remissione delle micropoliangioiti ANCA-associate? E, in questo caso, va impiegato con i soli glucocorticoidi o potenziato dall'associazione con la ciclofosfamida e.v.?

È ancora dibattuto se il meccanismo del RTX nelle micropoliangioiti sistemiche consista esclusivamente nella rimozione della sorgente cellulare del putativo autoanticorpo patogeno. Ciò dovrebbe presupp-

porre che gli anticorpi anticitoplasma dei neutrofili siano prodotti da plasmacellule a emivita breve. In effetti, sembra probabile che il RTX blocchi meccanismi autoimmuni B dipendenti anche non correlati con la produzione di anticorpi, come la produzione di citochine, la presentazione dell'antigene e le interazioni con i linfociti T e altre cellule presentanti l'antigene (63). Inoltre, nelle vasculiti sistemiche è stata osservata un'espansione del compartimento B cellulare che moltiplica il numero delle cellule presentanti l'antigene aumentando la produzione e la varietà delle citochine prodotte. La comprensione dei meccanismi patogenetici alla base delle micropoliangioiti ANCA-associate è critica per l'identificazione di biomarcatori affidabili di remissione e di recidiva che indirizzino il clinico a decidere quando iniziare, sospendere o ridurre il trattamento immunosoppressivo. Certamente, la ciclofosfamide è, di per sé, un potente induttore di deplezione linfocitaria (64) e la sua somministrazione in fase di induzione potrebbe potenziare gli effetti del Rituximab accorciando i tempi di risposta ed estendendo il periodo di deplezione B cellulare (65). Si potrebbe, forse, estrapolare dai dati degli studi aperti e soprattutto dai *trial* randomizzati controllati che la combinazione di Rituximab e ciclofosfamide possa essere riservata alle condizioni di particolare rischio, meglio rappresentate dalla coorte di pazienti reclutati nel RITUXVAS. L'elevata mortalità precoce osservata nel RITUXVAS (che non risparmia il gruppo di controllo non trattato con RTX) e che è stata considerata nell'editoriale di accompagnamento come motivo di particolare preoccupazione (44) è probabilmente l'espressione di una selezione molto negativa di pazienti a rischio elevato. Nello

studio RAVE che recluta pazienti meno compromessi la mortalità è ricondotta ai valori attesi.

Lo studio RAVE ha, tuttavia, rilevato un numero di eventi neoplastici inaspettatamente elevato, a sottolineare l'opportunità di contenere l'esposizione ad agenti immunosoppressivi nelle forme recidivanti/remittenti.

L'entità dell'immunosoppressione è anche connessa con la più temibile delle complicanze a cui è stato correlato l'uso del Rituximab. Un apparente incremento di casi di leucoencefalopatia multifocale progressiva è spesso enfatizzato nelle rassegne sul ruolo del Rituximab in immunopatologia. Si tratta quasi esclusivamente di pazienti sottoposti a combinazioni immunosoppressive polifarmacologiche, cosa che certamente moltiplica il rischio infettivologico.

Nello studio RAVE il numero di effetti collaterali con il Rituximab è risultato equivalente a quello della ciclofosfamide orale, lasciando supporre che un gruppo di controllo trattato con CYC e.v. avrebbe manifestato minori effetti avversi. Va, tuttavia, sottolineato che, con un gruppo di controllo trattato con CYC e.v. (uno schema meno protettivo della somministrazione orale nei confronti delle recidive (34)), la superiorità del Rituximab nelle forme recidivanti/remittenti sarebbe probabilmente risultata ancora più evidente.

Un altro aspetto forse insufficientemente enfatizzato è se il RTX possa alterare il processo immunopatogenetico avviando alla necessità di far seguire alla terapia di induzione il trattamento di mantenimento. I risultati dello studio RAVE in cui il *follow-up* è limitato a 6 mesi non sono conclusivi. Può, tuttavia, essere di qualche interesse una recente segnalazione (18) su 11 pazienti affetti da micropoliangioiti sistemiche ANCA-

associate intolleranti o refrattari alle terapie immunosoppressive convenzionali, che, trattati con RTX e prednisone a scalare, hanno mostrato un abbattimento del *Birmingham Vasculitis Activity Score* a un anno, ricevendo dal sesto mese soltanto più piccolissime dosi di steroide (mediamente 5.5 mg/die). Non si sono osservate recidive in 9 degli 11 casi in un *follow-up* di 30-54 mesi. Una recidiva si è avuta in due casi, a 15 e a 18 mesi. Ritrattata con RTX, è nuovamente rientrata.

L'assenza di un'ulteriore terapia immunosoppressiva di mantenimento nei pazienti trattati con Rituximab rappresenta una vera rivoluzione, anche concettuale, del trattamento delle micropoliangioiti sistemiche ANCA-associate, vanificando le diatribe sulla superiorità, in fase di mantenimento, di un immunosoppressore sull'altro per quanto attiene costi, effetti collaterali ed entità di pressione assistenziale intesa a cogliere tempestivamente anomalie biologiche (dalla leucopenia all'infertilità). Non irrilevante in questo contesto è l'impatto sulla vita di relazione del paziente potenzialmente recuperabile in quasi tutti i suoi aspetti, a cominciare dalla percezione della malattia.

Viene spesso posto il quesito del dosaggio ottimale del RTX. La maggior parte degli studi sulle micropoliangioiti ANCA-associate è stata condotta con il cosiddetto "protocollo linfoma" (375 mg/m²/settimana per 4 settimane). Non ci sono evidenze che questa modalità sia più efficace della somministrazione di 1 g ogni due settimane per 2 settimane, lo schema impiegato nell'artrite reumatoide. Peraltro, in nessun disordine immuno-mediato nel quale sia stato impiegato il RTX, artrite reumatoide inclusa, è stata dimostrata la superiorità di un protocollo di

somministrazione rispetto all'altro. Ci possono essere i vantaggi logistici di un minore consumo di risorse assistenziali impiegando lo "schema artrite reumatoide", ma la tolleranza all'infusione è garantita maggiormente dal protocollo linfoma. Nel tentativo di raggiungere anche i linfociti tissutali, è stato sviluppato anche un protocollo più intensivo a dosi refratte, denominato 4+2 (schema linfoma seguito da due ulteriori infusioni dopo uno e due mesi), che è stato impiegato in uno studio molto recente (18) sulla base di osservazioni aneddotiche in altre condizioni patologiche di una più prolungata deplezione B linfocitaria (66, 67).

È giusto, ovviamente, considerare il valore economico del farmaco in una generale valutazione costo/efficacia (46). Nondimeno, l'impatto economico di un paziente con micropoliangioite soprattutto a fenotipo granulomatoso e ANCA di *pattern C* è solo in minima misura determinato dal costo assoluto del farmaco. Come mostrano le valutazioni farmaco-economiche sulla gestione dei pazienti con vasculite sistemica idiopatica, la componente più rilevante della spesa è quella dell'ospedalizzazione (68) che non è solo legata alle infezioni, ma anche alla disabilità indotta

dal trattamento che, nel caso degli steroidi e della ciclofosfamide, è particolarmente severa (69).

Con l'introduzione degli immunosoppressori, in particolare la ciclofosfamide, si è inaugurata e in parte superata l'era steroid-sparing. Nel trattamento delle micropoliangioiti sistemiche, come di altre selezionate patologie immuno-mediate che richiedono trattamenti immunosoppressivi protratti, siamo oggi alla ricerca di farmaci cyclophosphamide-sparing, una sfida difficile perché ci si misura con un farmaco di straordinaria efficacia. Si stanno accumulando evidenze che il Rituximab possa candidarsi se non a sostituire del tutto la ciclofosfamide quanto meno a contenerne drasticamente il dosaggio. Vanno, tuttavia, sottolineati alcuni pratici aspetti gestionali. È indispensabile la monitoraggio citofluorimetrica del profilo dei linfociti CD20 ma anche dei linfociti CD19, i primi a ricomparire dopo la deplezione indotta dal Rituximab. È opportuno, benché raramente critico, dotarsi di un sistema di determinazione degli anticorpi anti-chimera. Occorre prevedere la supplementazione di immunoglobuline nei casi, peraltro infrequenti, di ipogammaglobulinemia (soprattutto se IgG

<300 mg/dL). Vanno evitate le combinazioni farmacologiche immunosoppressive protratte. Molti degli effetti collaterali del Rituximab sono stati descritti in pazienti con NHL, dove il farmaco biologico è solo uno dei componenti del protocollo terapeutico. Particolare cautela andrebbe riservata alle sovrapposizioni di farmaci inibenti la funzione T cellulare che, in condizioni di deplezione B, diventa un'irrinunciabile difesa nei confronti delle infezioni.

Con queste avvertenze, mitigando il comprensibile entusiasmo per una terapia innovativa con la giusta cautela che deriva dalla consapevolezza di poter ottenere anche con un trattamento convenzionale eccellenti risultati nella maggior parte dei casi, il Rituximab può entrare a buon diritto nell'armamentario terapeutico delle micropoliangioiti sistemiche ANCA-associate, soprattutto di quelle a fenotipo granulomatoso e *pattern* citoplasmatico, che hanno una più definita propensione all'andamento clinico recidivante-remittente.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Pescovitz MD. Rituximab, an anti-cd20 monoclonal antibody: history and mechanism of action. *Am J Transplant* 2006; 6 (5): 859-66.
2. Schlossman SF. Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J Immunol* 1980; 125 (4): 1678-85.
3. Du J, Wang H, Zhong C, et al. Structural bases for recognition of CD 20 by therapeutic antibody Rituximab. *J Biol Chem* 2007; 282 (20): 15073-80.
4. Reff ME, Carner K, Chambers KS, et al. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD 20. *Blood* 1994; 83 (2): 435-45.
5. Hardy RR, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 595-621.
6. Goodnow CC, Cyster JG, Hartley SB, et al. Self-tolerance checkpoints in B lymphocyte development. *Adv Immunol* 1995; 59: 279-368.
7. Cardarelli PM, Quinn M, Buckman D, et al. Binding to CD20 by anti-B1 antibody or F(ab')₂ is sufficient for induction of apoptosis in B-cell lines. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51 (1): 15-24.
8. 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. *Arthri-*

9. Golay J, Zaffaroni L, Lazzari M, Borleri GM, Bernasconi S. Biologic response of B lymphoma cells to anti CD20 antibody Rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. *Blood* 2000; 95: 3900-8.
10. Keogh KA, Wylam ME, Stone JH, Specks U. Induction of remission by B lymphocyte depletion in eleven patients with refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 262-8.
11. Eriksson P. Nine patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis successfully treated with Rituximab. *J Intern Med* 2005; 257 (6): 540-8.
12. Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, Carlson KA, Schroeder DR, Specks U. Rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: report of a prospective, open-label pilot trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173 (2): 180-7.
13. Aries PM, Hellmich B, Voswinkel J, et al. Lack of efficacy of Rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 (7): 853-84.
14. Stasi R, Stipa E, Del Poeta G, Amadori S, Newland AC, Provan D. Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with Rituximab. *Rheumatology* 2006; 45 (11): 1432-6.
15. Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR. Long-term comparison of Rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum* 2006; 54 (9): 2970-82.
16. Henes JC, Fritz J, Koch S, et al. Rituximab for treatment of resistant extensive Wegener's granulomatosis-additive effects of a maintenance treatment with leflunomide. *Clin Rheumatol* 2007; 26 (10): 1711-5.
17. Roccatello D, Baldovino S, Alpa M, et al. Effects of anti-CD20 monoclonal antibody as a rescue treatment for ANCA-associated idiopathic systemic vasculitis with or without overt renal involvement. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: S67-71.
18. Roccatello D, Sciascia S, Rossi D, et al. Long term effects of Rituximab added to Cyclophosphamide in refractory patients with vasculitis. *Am J Nephrol* 2011; 34 (2): 175-80.
19. Bosch X, Guilabert A, Espinosa G, Mirapeix E. Immunotherapy for antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: challenging the therapeutic status quo? *Trends Immunol* 2008; 29: 280-9.
20. Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, et al. European Vasculitis Study Group. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363 (3): 211-20.
21. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, et al. RAVE-ITN Research Group. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363 (3): 221-32.
22. Booth AD, Almond MK, Burns A, et al. Outcome of ANCA-associated renal vasculitis: a 5-year retrospective study. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 776-84.
23. Holle JU, Wieczorek S, Gross WL. The future of ANCA-associated vasculitis. *Rheum Dis Clin North Am* 2010; 36: 609-21.
24. Walton EW. Giant cell granuloma of the respiratory tract (Wegener's granulomatosis). *Br Med J* 1958; 2: 265-70.
25. Fauci AS, Doppman JL, Wolff SM. Cyclophosphamide-induced remission in advanced polyarteritis nodosa. *Am J Med* 1978; 64: 890-94.
26. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J* 1982; 285: 606.
27. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985; 1: 425-9.
28. Erwig L-P, Savage COS. ANCA-associated vasculitides: advances in pathophysiology and treatment. *Netherl J Med* 2010; 68: 62-7.
29. Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, et al. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1628-36.
30. Jayne D. Challenges in the management of microscopic polyangiitis: past, present and future. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 3-9.
31. Gordon M, Luqmani RA, Adu D, et al. Relapses in patients with a systemic vasculitis. *Q J Med* 1993; 86: 779-89.
32. Talr-Williams C, Hijazi YM, Walther MM, et al. Cyclophosphamide-induced cystitis and bladder cancer in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Intern Med* 1996; 124: 477-84.
33. Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC, et al. EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 310-17.
34. Walters GD, Willis NS, Craig JC. Interventions for renal vasculitis in adults. A systematic review. *BMC Nephrology* 2010; 11: 12.
35. Slot MC, Tervaert JW, Franssen CF, Stegeman CA. Renal survival and prognostic factors in patients with PR3-ANCA associated vasculitis with renal involvement. *Kidney Int* 2003; 63: 670-7.
36. Walsh M, Catapano F, Szpirt W, et al. Plasma exchange for renal vasculitis and idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2011; 57: 566-74.
37. Stegmayr BG, Almroth G, Berlin G, et al. Plasma exchange or immunoadsorption in patients with rapidly progressive crescentic glomerulonephritis. A Swedish multi-center study. *In J Artif Organs* 1999; 22: 81-7.
38. Furuta T, Hotta O, Yusa N, et al. Lymphocytapheresis to treat rapidly progressive glomerulonephritis: a randomised comparison with steroid-pulse treatment. *Lancet* 1998; 352: 203-4.
39. Jayne DR, Lockwood CM. Intravenous immunoglobulins a sole therapy for systemic vasculitis. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 1150-3.
40. Levy Y, Sherer Y, George J, et al. Serologic and clinical response to treatment of systemic vasculitis and associated autoimmune disease with intravenous immunoglobulin. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 119: 231-8.
41. Jayne DR, Chapel H, Adu D, et al. Intravenous immunoglobulin for ANCA-associated systemic vasculitis with persistent disease activity. *QJM* 2000; 93: 433-9.
42. Chung SA, Seo P. Advances in the use of biologic agents for the treatment of systemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 3-9.
43. Langford CA, Talar-Williams C, Sneller MC. Use of methotrexate and glucocorticoids in the treatment of Wegener's granulomatosis. Long-term outcome in patients with glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1836-40.
44. Falk RJ, Jennette JC. Rituximab in ANCA-associated disease. *New Eng J Med* 2010; 363: 285-6.
45. Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Annu Rev Med* 2010; 61: 35-47.
46. Hebert LA, Ardoin S, Shim RL. Rituximab or cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *New Eng J Med* 2010; 363: 2072-3.
47. Hiemstra TF, Walsh M, Mahr A, et al. Mycophenolate mofetil vs azathioprine for remission maintenance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. A randomized controlled study. *JAMA* 2010; 304: 2381-8.
48. Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, et al. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *N Engl J Med* 2003; 349: 36-44.
49. De Groot K, Rasmussen N, Bacon PA,

- et al. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2641-69.
50. Mukhtyar C, Flossman O, Hellmich B, et al. Outcomes from studies of antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis: a systematic review by the European League Against Rheumatism systemic vasculitis task force. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1004-10.
 51. De Groot K, Harper L, Jayne DR, et al. Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2009; 150: 678-80.
 52. Metzler C, Miehle N, Manger K, et al. Elevated relapse rate under oral methotrexate versus leflunomide for maintenance of remission in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology* 2007; 46 (7): 1087-91.
 53. Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, et al. Birmingham Vasculitis activity score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QMJ* 1994; 671-8.
 54. Kallenberg CG. Pathophysiology of ANCA-associated small vessel vasculitis. *Curr Rheumatol Rep.* 2010; 12 (6): 399-405.
 55. Krumbholz M, Specks U, Wick M, Kalled SL, Jenne D, Meinel E. BAFF is elevated in serum of patients with Wegener's granulomatosis. *J Autoimmun* 2005; 25: 298-302.
 56. Popa ER, Stegeman CA, Bos NA, Kallenberg CG, Tervaert JW. Differential B- and T-cell activation in Wegener's granulomatosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103 (5): 885-94.
 57. Voswinkel J, Müller A, Lamprecht P. Is PR3-ANCA formation initiated in Wegener's granulomatosis lesions? Granulomas as potential lymphoid tissue maintaining autoantibody production. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1051: 12-9.
 58. Voswinkel J, Müller A, Kraemer JA, et al. B lymphocyte maturation in Wegener's granulomatosis: a comparative analysis of VH genes from endonasal lesions. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 859-64.
 59. Cupps TR, Edgar LC, Fauci AS. Suppression of human B lymphocyte function by cyclophosphamide. *J Immunol* 1982; 128 (6): 2453-7.
 60. Specks U, Fervenza FC, McDonald TJ, Hogan MC. Response of Wegener's granulomatosis to anti-CD20 chimeric monoclonal antibody therapy. *Arthritis Rheum* 2001; 44 (12): 2836-40.
 61. Jones RB, Ferraro AJ, Chaudhry AN. A multicenter survey of rituximab therapy for refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2156-68.
 62. Fervenza FC. Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis: Fad or Fact? *Nephron Clin Pract* 2011; 118 (2): 182-8.
 63. Mitchison NA. T cell-B cell cooperation. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 308-12.
 64. Zhu LP, Cupps TR, Whalen G, Fauci AS. Selective effects of cyclophosphamide therapy on activation, proliferation, and differentiation of human B cells. *J Clin Invest* 1987; 79 (4): 1082-90.
 65. Roccatello D, Sciascia S, Rossi D, et al. Intensive short-term treatment with rituximab, cyclophosphamide and methylprednisolone pulses induces remission in severe cases of SLE with nephritis and avoids further immunosuppressive maintenance therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2011. [Epub ahead of print]
 66. Roccatello D, Baldovino S, Rossi D, et al. Long-term effects of anti-CD20 monoclonal antibody treatment of cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19: 3054-61.
 67. Cavallo C, Roccatello D, Menegatti E, Naretto C, Napoli F, Baldovino S. Rituximab in cryoglobulinemic peripheral neuropathy. *J Neurol* 2009; 256: 1076-82.
 68. Cotch MF. The socioeconomic impact of vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12 (1): 20-3.
 69. Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY, et al. Wegener granulomatosis: an analysis of 158 patients. *Ann Intern Med* 1992; 116 (6): 488-98.