



MECCANISMI DELLA TERAPIA IMMUNOLOGICA NELLE GLOMERULONEFRITI

Rosaria Polci, Sandro Feriozzi

U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedale Belcolle, AUSL Viterbo, Viterbo

Immunotherapy mechanisms in glomerulonephritis

The pathogenetic mechanisms of glomerulonephritis are numerous and complex, involving both humoral and cell-mediated immune responses. The ability of drugs to interfere with immune pathways has not been completely understood and the treatment of glomerulonephritis is therefore still empirical and based on clinical studies. Corticosteroids are the most commonly used drugs; their mechanism of action is variable and can be modulated by the prescribed dosage. Immunosuppressive drugs employed for the treatment of glomerulonephritis include alkylating agents such as cyclophosphamide and antimetabolites such as mycophenolate-mofetil and azathioprine. These drugs have a powerful immunosuppressive effect but are associated with several dangerous side effects. Cyclosporin A is a calcineurin inhibitor belonging to the class of immunomodulators and is able to interfere with the immune response. Another group of drugs are monoclonal antibodies, the most popular among which is rituximab. It is an antibody directed against the transmembrane protein CD20, specifically expressed on the surface of B lymphocytes. Its use is limited to cases in which the usual therapy with steroids and immunosuppressive drugs was ineffective. The clinical studies conducted so far look promising.

Conflict of interest: None

Experimental studies on humans and animals: The authors declare they have conducted no experimental studies on humans and/or animals. The figures and tables in this article are not subject to permission for use of copyrighted material.

KEY WORDS:

Alkylating agents, Monoclonal antibodies, Corticosteroids, Glomerulonephritis, Immunosuppressants

PAROLE CHIAVE:

Agenti alchilanti, Anticorpi monoclonali, Corticosteroidi, Glomerulonefriti, Immunosoppressori

Indirizzo degli Autori:

Dr.ssa Rosaria Polci
Nefrologia e Dialisi
Ospedale Belcolle
Strada Sammartinese snc
01100 Viterbo
e-mail: rosaria.polci@asl.vt.it

INTRODUZIONE

La capacità dei farmaci immunosoppressori di interferire con il sistema immunitario è un'acquisizione piuttosto recente e i meccanismi immunologici coinvolti nella patogenesi delle glomerulonefriti sono complessi e non ancora completamente conosciuti. A tutt'oggi, quindi, l'approccio alla terapia delle patologie renali immunomediate resta ancora in gran parte empirico e necessita di studi clinici randomizzati e di Linee Guida, nel tentativo di razionalizzare e standardizzare i vari approcci terapeutici.

Nel prescrivere una terapia immunosoppressiva in corso di glomerulonefrite, si deve tenere conto dei meccanismi patogenetici delle lesioni e su quali di questi meccanismi i farmaci che abbiamo a disposizione andranno ad agire. Scopo di questa rassegna è quello di ripercorrere i principali meccanismi d'azione dei farmaci comunemente utilizzati nella terapia delle patologie renali immunomediate, tenendo conto anche della loro tossicità (1) (Tab. I).

MECCANISMI PATOGENETICI DELLE GLOMERULONEFRITI

È ormai acquisito che le glomerulonefriti sono patologie prevalentemente autoimmuni: alcuni agenti eziologici inducono la perdita di tolleranza ad antigeni self (glomerulonefrite membranosa primitiva), altri danno luogo a una risposta immune diretta contro agenti estranei (glomerulonefrite associata ad antigeni virali) e altri ancora sono dovuti a una lesione infiammatoria necrotizzante delle arteriole con una consensuale reazione del tessuto circostante (glomerulonefriti in corso di vasculiti).

La causa più frequente di una glomerulonefrite è la deposizione di immunodepositi (complessi antigene-anticorpo) a livello della membrana basale glomerulare. Tali depositi possono essere lineari (malattia da anticorpi anti-membrana basale) oppure granulari a livello della superficie interna della parete dei capillari (depositi sub-endoteliali, come nella glomerulonefrite mesangio-

TABELLA I - FARMACI DI COMUNE IMPIEGO NELLA TERAPIA DELLE GLOMERULONEFRITI

Farmaco	Meccanismo D'azione	Effetti Farmacologici	Effetti Collaterali	Riduzione dose con IR	Suggerimenti
Corticosteroidi	Inibizione geni codificanti per le citochine (IL-1, TNF α , GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-5, IL-8) Riduzione delle molecole di adesione Aumento dell'endonucleasi	Riduzione dell'infiammazione causata dalle citochine Riduzione della migrazione dei leucociti dai vasi Induzione di apoptosi nei linfociti e negli eosinofili	Infezioni, iperglicemia, ipertensione arteriosa, obesità, cataratta, osteoporosi	No	Per il danno osseo: densitometria ossea ogni 6 mesi. Profilassi: Calcio 1.5 g/die; Vit D 400-800 UI
Ciclofosfamide	Inibizione sintesi del DNA	Blocco della replicazione e della trascrizione del DNA Inibizione sintesi proteica	Tossicità midollare, cistite emorragica, neoplasie vescica, infezioni	Sì	Controlli frequenti crasi ematica; riduzione della dose con evidenza di soppressione midollare MESNA per la prevenzione della tossicità vescicale
Azatioprina	Inibizione sintesi purine	Blocco della proliferazione dei linfociti T e B	Tossicità midollare, neoplasie	No	Sorveglianza neoplasie
Micofenolato mofetile	Inibizione sintesi purine	Blocco della proliferazione dei linfociti T e B	Gastrointestinali, infezioni urinarie	No	Sorveglianza crasi ematica
Ciclosporina	Blocco sintesi citochine (IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, TNF α) Ridotta esocitosi Ca ⁺⁺ dip. dei granuli associati a serin esterasi	Blocco della proliferazione dei linfociti T e B Effetti diretti sui granulociti	Tossicità renale acuta, ipertensione arteriosa, neoplasie (linfoma di Burkitt), anemia microangiopatica	Sì Dose secondo i livelli ematici	Controllo frequente livelli ematici a 12 h (90-130 ng/mL) Associare ASA, calcio-antagonisti
Rituximab	Induzione apoptosi Attivazione del complemento Citotossicità Fc mediata	Deplezione linfociti B	Reazioni da anafilassi, iperviscosità	No	Cautela nei pazienti con insufficienza renale

capillare tipo I) o nel mesangio (glomerulonefrite IgA) o anche sul versante epiteliale della membrana basale (glomerulonefrite membranosa). In genere, la deposizione degli immunocomplessi è seguita da una risposta infiammatoria (minore per i depositi sub-epiteliali) con attivazione della cascata dei fattori del complemento. Altre volte, i processi infiammatori possono riconoscere vie di attivazione alternative, senza che avvenga la deposizione di immunocomplessi, e si può avere una grave flogosi come avviene nelle vasculiti (glomerulonefriti necrotizzanti ANCA positive). In questi casi, i processi necrotici che accadono a livello dei piccoli vasi e dei glomeruli (che non sono altro che capillari ad alta specializzazione) determinano l'attivazione dei meccanismi della flogosi con un richiamo di cellule infiammatorie (leucociti, neutrofili, monociti, ecc.), a cui si associa la proliferazione dell'epitelio capsulare dei

glomeruli (semilune) (Fig. 1).

Oltre ai meccanismi umorali, la risposta immune nefritogena comprende anche quelli dell'immunità cellulo-mediata. In entrambi i casi, i macrofagi e i linfociti T hanno un ruolo chiave: i macrofagi attivati dai linfociti T rilasciano sostanze infiammatorie (citochine, sostanze ossidanti, ecc.) e innescano i processi favorevoli alla fibrosi (2, 3).

La scelta del farmaco deve essere sempre una decisione ponderata. È importante, infatti, valutare se il coinvolgimento preponderante sia dell'immunità cellulo-mediata, come accade nel trapianto, o umorale, come accade nelle glomerulonefriti da immunocomplessi. In ogni caso, l'utilizzo di farmaci immunosoppressori è sempre causa di immunodeficienza e, quindi, di maggiore suscettibilità alle infezioni e di aumentato rischio di sviluppare patologie neoplastiche (4).

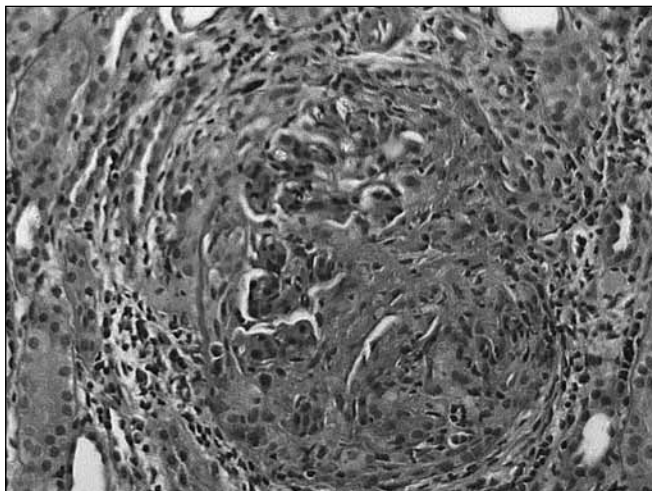


Fig. 1 - Glomerulo con semiluna cellulare circonferenziale associata a un'interruzione della capsula per i processi infiammatori intra ed extra glomerulari (microscopia ottica 150x, colorazione PAS).

CORTICOSTEROIDI

I corticosteroidi sono potenti farmaci antinfiammatori utilizzati per sopprimere gli effetti della risposta immune di qualsiasi origine: patologie autoimmuni, allergiche o nel rigetto di trapianto. Da un punto di vista strettamente farmacologico, sono derivati della famiglia dei glucocorticoidi di ormoni steroidei (5).

Uno dei più comunemente utilizzati è il prednisone, sintetico analogo del cortisolo, che ha un doppio legame tra la posizione 1 e 2 dell'idrocortisone, che rende l'attività del delta 1 idrocortisone di 4 volte superiore rispetto al cortisolo (6).

Nel plasma, il cortisolo viaggia legato alla *corticosteroid binding protein* (CBG) e all'albumina, mentre il prednisone circola libero o debolmente legato all'albumina. I glucocorticoidi si diffondono passivamente attraverso la membrana cellulare e si legano al *glucocorticoid binding receptor* (GBR) (7). I glucocorticoidi agiscono, quindi, come complesso con il recettore intracellulare che è espresso in quasi tutte le cellule del corpo. Questi complessi regolano la trascrizione di specifici geni e sono, quindi, in grado di modificare la sintesi proteica.

I meccanismi d'azione degli steroidi sono sostanzialmente tre e vengono attivati a livello cellulare in base al dosaggio utilizzato (7, 8).

Quando vengono utilizzati ad alti dosaggi, il complesso viaggia nel nucleo come dimero e si lega a sequenze di DNA chiamate *Glucocorticoid Responders Elements* (GRE), facilitando o inibendo l'assemblaggio delle proteine e iniziando la trascrizione dell'RNA polimerasi II. A un più basso dosaggio, i corticosteroidi bloccano l'attività trascrizionale del *Nuclear Factor kB* (NF-KB) con il successivo blocco della produzione di citochine infiammatorie (TNF α , IL-1, ecc.), molecole di adesione e fattori del complemento (8, 9). Il terzo meccanismo d'azione consiste nei cosiddetti "non genomic pathways", cioè l'attivazione

diretta di cascate enzimatiche tramite secondi messaggeri. Tali effetti giustificano la rapidità della risposta farmacologica non correlata all'interferenza con la trascrizione dei geni e i rapidi miglioramenti clinici a volte osservabili con la terapia steroidea (10).

Non è certo quale sia il meccanismo d'azione prevalente *in vivo* e, quindi, è importante considerare la dose che si intende somministrare valutando caso per caso. Basse dosi, utilizzate, per esempio, nelle terapie di mantenimento o nel rigetto del trapianto, hanno effetti antinfiammatori legati al blocco della produzione da parte dei macrofagi di IL-1 e TNF α , mentre alte dosi di steroide determinano un effetto citolitico diretto sui linfociti T e B. Questo è il razionale dell'utilizzo delle alte dosi di steroide in corso di glomerulonefriti rapidamente progressive, dove la tempestività della terapia è fondamentale e l'impiego dei boli di cortisone è una pratica comune.

Gli effetti dell'uso degli steroidi diretti sulla trascrizione sono mediati dalla riduzione della sintesi di IL-8, che è responsabile della migrazione dei neutrofili nei siti di infiammazione, dal legame e dal blocco del *promoter* per la sintesi di IL-1 α e β e dall'inibizione della sintesi di quasi tutte le citochine pro-infiammatorie (6). Le molecole di adesione sono ridotte sia a livello dei leucociti che delle cellule endoteliali e, quindi, viene inficiata l'abilità dei leucociti di penetrare nei siti di infiammazione.

L'utilizzo dello steroide è associato alla presenza di una leucocitosi neutrofila dovuta alla diminuzione della migrazione nei siti di infiammazione e all'inibizione dell'apoptosi. È frequente l'osservazione di una riduzione degli eosinofili per sequestro nelle strutture extravascolari e per aumento dell'apoptosi in modo diretto o attraverso la diminuita sintesi di IL-5 che promuove la loro sopravvivenza (11).

Il gene umano del recettore dei glucocorticoidi è localizzato sul cromosoma 5q 31-32, ma di esso esistono alcune varianti nell'uomo, per cui è possibile osservare l'espressione sia del GRP α che β (12). Questa eterogeneità genetica, modificando i processi metabolici a cui il farmaco è sottoposto, può fornire la spiegazione razionale dell'estrema variabilità degli effetti degli steroidi che si osserva in clinica. Studi *in vitro* dimostrano che, quando sulle cellule è maggiormente espresso il tipo β , si osserva una maggiore resistenza ai glucocorticoidi; inoltre, molecole pro-infiammatorie come le citochine TNF α e IL-1 hanno la capacità di *up-regolare* il recettore β nelle cellule durante l'infiammazione (13).

La somministrazione mattutina di una singola dose di prednisone non sopprime il picco circadiano di cortisolo della mattina successiva; tuttavia, la tossicità può comunque manifestarsi nelle terapie a lungo termine per interferenza con l'asse ipotalamo-ipofisi-surreni. Gli effetti collaterali possono essere molteplici e molto gravi e si manifestano quando i pazienti ricevono più di 20 mg al giorno, per più di tre settimane.

L'ipertensione arteriosa che si osserva nei pazienti può essere legata all'aumento di ritenzione di sodio o a un'eccessiva risposta all'angiotensina II per aumentata espressione dei

suoi recettori. La stretta associazione fra l'uso degli steroidi e l'ipertensione arteriosa e l'espansione della volemia richiede sempre di valutare con attenzione l'aumentato rischio cardiovascolare nei pazienti in terapia cortisonica.

Altro effetto collaterale frequente e temuto degli steroidi è l'osteoporosi. Infatti, i GRE inibiscono la trascrizione dell'osteocalcina negli osteoblasti. L'osteocalcina è un'importante proteina della matrice extracellulare che promuove la mineralizzazione dell'osso (14).

I glucocorticoidi promuovono la gluconeogenesi e la lipolisi con un aumento della suscettibilità al diabete. Gli effetti dell'uso degli steroidi nel bambino possono essere devastanti con un ritardo di crescita. Soprattutto nei bambini e negli anziani occorre considerare lo sviluppo di anomalie neuropsichiatriche.

La rapida soppressione del sistema ipotalamo-ipofisi può determinare un'insufficienza surrenalica clinicamente significativa, quando il farmaco viene sospeso improvvisamente o nei periodi di stress e, pertanto, in caso di sospensione, il farmaco deve essere ridotto progressivamente e con cautela.

In considerazione dei numerosi effetti collaterali degli steroidi, il farmaco deve essere somministrato alla minima dose per il minor tempo possibile, considerando, però, che altrettanto dannosa può essere una sospensione prematura con una recidiva della malattia e un nuovo ciclo di cortisonici.

In futuro sarà, forse, possibile l'uso di glucocorticoidi selettivi in cui verranno modulati gli effetti sulla trascrizione (15).

AGENTI ALCHILANTI

Gli agenti alchilanti sono composti in grado di inserire gruppi alchilici all'interno di macromolecole di composti organici come, per esempio, proteine e DNA. Provocano appaiamenti errati e rotture all'interno dei filamenti, che possono generare errori durante la fase di replicazione cellulare e che, quindi, hanno un effetto "genotossico" con una tossicità maggiore nelle cellule in riproduzione (16). I linfociti B e, in minor misura, i linfociti T sono particolarmente sensibili a questi agenti.

Le molecole più utilizzate sono ciclofosfamide e clorambucil; quest'ultimo, a causa della sua tossicità, ha un utilizzo limitato.

La capacità di questi farmaci di interferire con la riproduzione cellulare fornisce il razionale per il loro utilizzo nella terapia delle patologie con proliferazione cellulare, come avviene nelle glomerulonefriti proliferative intra- inter- ed extracapillari.

CICLOFOSFAMIDE

La ciclofosfamide è un pro-farmaco che viene trasformato nel fegato nel suo metabolita attivo, mostarda fo-

sforamide, che interferisce con la sintesi del DNA bloccandone la replicazione e la trascrizione.

L'assorbimento orale è rapido. Nell'epatocita, l'attivazione della ciclofosfamide a 4 idrossi-ciclofosfamide è catalizzata dal citocromo P450 (CYP) e, in particolare, dagli isoenzimi CYP2B6, 2C9 e 3A4. In competizione con la C4 idrossilazione della ciclofosfamide, esiste un meccanismo ossidativo minore (circa il 10%) che dà luogo alla N-decloro-etilazione con la formazione della cloro-acetaldeide, che è neurotossica. La 4-idrossi-ciclofosfamide è rapidamente trasformata nel suo tautomero aldofosfamide ed entrambi questi metaboliti diffondono passivamente all'esterno degli epatociti, circolano nel plasma ed entrano passivamente in tutte le altre cellule. L'aldofosfamide è un composto instabile che va incontro spontaneamente (cioè in via non enzimatica) a una reazione, che produce mostarda fosfamide e acrolein, che è principalmente responsabile della tossicità vescicale (16).

Nel plasma, i metaboliti attivi viaggiano legati alle proteine e si distribuiscono in tutti i tessuti, compreso il cervello e il midollo spinale, attraversano la placenta e si ritrovano anche nel latte materno. Sia i metaboliti attivi che quelli inattivi sono eliminati attraverso le urine in circa 48 ore e la dose deve essere, pertanto, adeguata al grado di insufficienza renale (17).

È la mostarda fosfamide ad essere clinicamente responsabile degli effetti farmacologici della ciclofosfamide; tuttavia, nella sua forma circolante anionica, non entra nelle cellule molto facilmente. Pertanto, la capacità intracellulare di generare mostarda fosfamide dall'aldofosfamide è molto importante ai fini del risultato terapeutico.

La cellula è dotata di propri meccanismi di detossificazione. La complessità di tali meccanismi di produzione di metaboliti attivi dal farmaco somministrato, insieme con i sofisticati sistemi di detossificazione dell'organismo, giustificano la variabilità inter-individuale di risposta terapeutica ed effetti collaterali (16).

Inoltre, talune differenze potrebbero essere dovute al polimorfismo negli enzimi CYP. Ci sono numerosi lavori sull'associazione tra i genotipi CYP3A4 e 3A5 e la risposta o la sopravvivenza nei pazienti trattati con ciclofosfamide. Uno studio su 62 pazienti con nefrite lupica ha dimostrato che i pazienti trattati con ciclofosfamide eterozigoti oppure omozigoti per la variante del CYP 2C19*2 presentavano un rischio più basso di sviluppare infertilità ovarica e un aumentato rischio di progressione verso l'insufficienza renale. Molte delle varianti genetiche che influenzano il metabolismo della ciclofosfamide potrebbero non essere ancora conosciute (18).

L'utilizzo del farmaco deve essere molto attento, essendo numerosi gli effetti collaterali a breve e a lungo termine. La ciclofosfamide, infatti, determina una soppressione midollare in modo dose dipendente. I pazienti devono essere sottoposti a un controllo dell'emocromo bi-settimanale e la dose deve essere adeguata al numero di globuli bianchi, considerando che la granulocitopenia nell'ambito delle glomerulonefriti non è uno scopo della

terapia. La linfopenia è accentuata dalla concomitante terapia steroidea e, in corso di nefrite lupica, deve essere differenziata dalla ripresa della malattia. In genere, l'effetto tossico sulle altre componenti del midollo è minore e l'anemia e la piastrinopenia sono meno frequenti.

Allo scopo di prevenire gli effetti collaterali dovuti all'eliminazione renale del farmaco e dei suoi metaboliti, si raccomanda l'idratazione e la somministrazione contemporanea di MESNA (sodio 2 mercaptoetano sulfonato), che lega acrolein inattivandola. Esistono due formulazioni, orale ed endovenosa, entrambe efficaci nel prevenire l'insorgenza di cistiti emorragiche e nel ridurre l'incidenza di neoplasie della vescica (19). È utile a scopo preventivo la somministrazione di ciclofosfamide al mattino, per evitare il ristagno del farmaco in vescica.

Altri effetti collaterali comuni sono la nausea, la perdita di capelli e l'iponatremia per inappropriata secrezione di ADH. Tali effetti si manifestano generalmente per le dosi maggiori di 30-40 mg al giorno. A volte, è necessario considerare la terapia antibiotica con il trimetoprim-sulfametossazolo, per la profilassi delle infezioni da *pneumocisti carini*, nei pazienti a rischio.

ANTIMETABOLITI

AZIATOPRINA

L'azatioprina è un analogo delle purine e viene somministrata come pro-farmaco della 6-mercaptopurina, che è un inibitore della sintesi delle purine. La molecola attiva interferisce con la sintesi del DNA bloccando la formazione *de novo* delle purine, con il risultato finale di inibire la proliferazione cellulare. I linfociti T e B sono particolarmente sensibili al blocco delle purine, non essendo dotati di vie enzimatiche alternative "di salvataggio". Ne consegue un blocco sia dell'immunità cellulo-mediata che dell'immunità umorale, con una drastica riduzione della produzione di anticorpi (20).

Dal punto di vista farmacocinetico, l'azatioprina è ben assorbita dal tratto gastroenterico ed è metabolizzata per il 90% a 6-mercaptopurina in via non enzimatica da composti contenenti gruppi sulfidrilici come il glutatione o la cisteina, che sono presenti in tutte le cellule. La 6-mercaptopurina è, poi, enzimaticamente convertita in 6 acido tiourico dalla xantina ossidasi. Pertanto, i livelli plasmatici dei cataboliti dell'azatioprina possono aumentare, qualora venga contemporaneamente somministrato allopurinolo, che blocca la xantina ossidasi. In questi casi, occorre una riduzione della dose di azatioprina allo scopo di prevenire gli effetti tossici. Gli effetti tossici dell'azatioprina e dei suoi metaboliti sono soprattutto a livello midollare con leucopenia (il più comune), anemia e trombocitopenia.

L'escrezione è prevalentemente renale e viene eliminata anche una quota di mercaptopurina e di farmaco immodificato.

L'azatioprina, nell'ambito delle patologie immuni renali, viene prevalentemente utilizzata nelle fasi di man-

tenimento piuttosto che nella terapia di induzione, dove sono richieste dosi maggiori e quindi più tossiche di farmaco. Il suo utilizzo è comunque gravato da una significativa tossicità, tanto che, negli ultimi anni, il suo impiego si è ridotto.

Gli studi di confronto, eseguiti sia nelle vasculiti ANCA associate che nella glomerulonefrite lupica, tra azatioprina e micofenolato di mofetile hanno riportato risultati equivalenti in termini di efficacia, ma di maggior tossicità dell'azatioprina rispetto al micofenolato di mofetile (21, 22).

MICOFENOLATO DI MOFETILE

Il micofenolato di mofetile è idrolizzato nel suo metabolita attivo acido micofenolico (MPA) che è un potente, selettivo e non competitivo inibitore reversibile dell'enzima inosin monofosfato deidrogenasi (IMPDH) e, perciò, inibisce la conversione di ipoxantina in guanina, che non può essere incorporata nel DNA.

L'inibizione selettiva della sintesi *de novo* delle purine risulta critica per la proliferazione di linfociti B e T che, come già detto, non sono dotati come altre cellule di una via di salvataggio: ne consegue che l'acido micofenolico ha potenti effetti citostatici specifici sui linfociti.

Gli effetti farmacologici sono molteplici. Il MPA sopprime la formazione di anticorpi da parte dei linfociti B, previene la glicosilazione delle glicoproteine di linfociti e monociti che sono coinvolte nell'adesione intercellulare alle cellule endoteliali e potrebbe inibire il reclutamento dei leucociti nei siti di infezione e di infiammazione e nel rigetto di trapianto.

Il micofenolato di mofetile, quindi, non inibisce gli eventi precoci dell'attivazione delle cellule mononucleate, come la produzione di IL-1 e IL-2, ma blocca questi eventi attraverso l'interferenza con la sintesi del DNA e della proliferazione linfocitaria (23, 24).

Anche la terapia con micofenolato di mofetile è associata a effetti collaterali che devono essere riconosciuti e trattati tempestivamente. Tali effetti possono comparire durante il trattamento come i sintomi gastrointestinali (vomito, diarrea e nausea), le infezioni opportunistiche (soprattutto delle vie urinarie), la leucopenia e, più raramente, l'anemia. È importante, quindi, anche in questo caso, sottoporre i pazienti a controlli clinici, con particolare attenzione ai valori dell'emocromo.

L'effetto farmacologico complessivo del MMF, che consiste in una riduzione della replicazione cellulare, ha diffuso e privilegiato l'utilizzo del farmaco nelle forme proliferative associate a fenomeni infiammatori quali la nefrite lupica (25). Tuttavia, il micofenolato di mofetile viene utilizzato anche nelle forme di glomerulonefrite con sindrome nefrosica dove si possono ottenere dei risultati clinici (26). In questi contesti, il suo effetto è risultato sovrapponibile a quello della ciclofosfamide, ma gravato da un minor numero di effetti collaterali (27).

CICLOSPORINA A

La ciclosporina A è un peptide lipofilico ciclico costituito da 11 aminoacidi ed è un farmaco che interferisce soprattutto con la risposta cellulo-mediata.

La ciclosporina determina un'aspecifica e reversibile inibizione della crescita dei linfociti immunocompetenti nella fase G0 o G1 del ciclo cellulare. Sono principalmente coinvolte sia le cellule Th1 che le cellule T1 *suppressor*. La particolare sensibilità dei linfociti T a questa molecola è legata alla scarsa quantità di calcineurina espressa in queste cellule che ne favorisce la completa inibizione. Questa particolare azione sui linfociti T rende la ciclosporina utile nell'impiego di schemi terapeutici di associazione con altri immunosoppressori, come accade spesso per la nefrite lupica.

La ciclosporina si lega alla ciclofillina e inibisce la calcineurina che è normalmente responsabile per l'attivazione dei fattori di trascrizione dell'IL-2. La ciclosporina inibisce anche la produzione di linfocine e il rilascio di altre interleuchine come TNF α , IL-3, IL-4 e INF γ , con l'effetto globale della riduzione della proliferazione dei linfociti (28, 29).

Tuttavia, la ciclosporina non interferisce solo con il sistema immune, ma ha un effetto diretto anche sul citoscheletro del podocita. Il meccanismo coinvolge la sinaptopodina che ha un ruolo chiave nello stabilizzare l'actina del citoscheletro nei podociti. Quando la sinaptopodina è fosforilata, si lega alla proteina 14-3-3 ed è protetta dalla degradazione. La calcineurina si lega a questo complesso avviandolo alla degradazione; la ciclosporina, legando la calcineurina, blocca questo processo (30). Quindi, l'effetto antiproteinurico di questo farmaco può essere anche non correlato agli effetti immunosoppressivi sui linfociti T. Queste evidenze possono fornire il razionale per l'utilizzo anche in patologie proteinuriche non immunomediata, come la glomerulosclerosi focale e segmentale e la malattia di Alport, in cui viene utilizzato il farmaco (31).

La ciclosporina è molto temuta per i suoi effetti collaterali, anche se le dosi impiegate in corso di glomerulonefriti sono piuttosto basse. Tuttavia, bisogna sempre considerare la nefrotossicità del farmaco, dovuta in parte alla vasoconstrizione ma anche al danno tubulare. Inoltre, l'aumento di espressione del TGF β , molecola in grado di attivare i processi di fibrosi, che si osserva in corso di terapia con ciclosporina ha un ruolo importante nella valutazione della fibrosi renale nel corso del *follow-up* del paziente (Fig. 2) (32). Rispetto ad altri farmaci immunosoppressori, la ciclosporina non ha attività mielosoppressiva e questo ne facilita ulteriormente l'uso negli schemi terapeutici in cui è associata ad altri immunosoppressori.

Tra gli effetti indesiderati, è possibile riscontrare elevati livelli di pressione arteriosa dovuta a una maggiore sensibilità al cloruro di sodio. Si segnala, inoltre, che l'uso della ciclosporina A è associato ad aumentati livelli plasmatici di potassio e acido urico.

Inoltre, poiché il farmaco viene catabolizzato a livello epatico dal citocromo P450, via comune del catabolismo di molti altre molecole, è importante monitorizzare

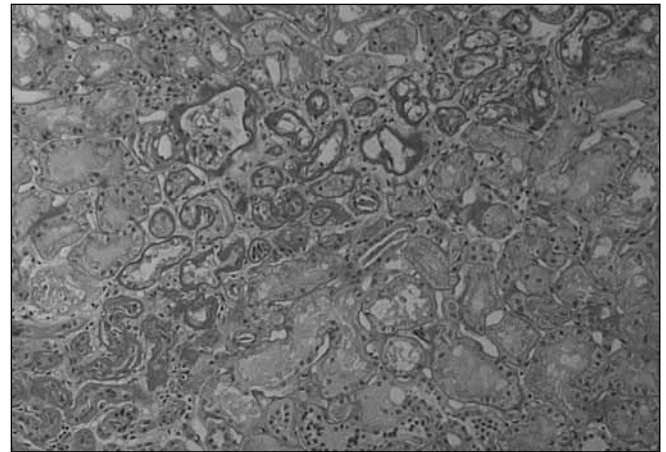


Fig. 2 - Presenza di fibrosi interstiziale intercalata a tessuto normale (fibrosi a strisce) in un paziente con trapianto renale che assume Ciclosporina A (microscopia ottica 400X, colorazione PAS).

TABELLA II - INTERAZIONE TRA CICLOSPORINA E ALTRI FARMACI

Farmaci associati ad aumento della cicloporinemia	Farmaci associati a riduzione della cicloporinemia
Diltiazem	Nafcillina
Nicardipina	Rifabutina
Verapamil	Rifampicina
Fluconazolo	Carbamezepina
Ketonazolo	Fenobarbital
Claritromicina	Fenitoina
Eritromicina	Octreotide
Lansoprazolo	Ticlopidina
Cimetidina	Orlistat
Metilprednisolone	
Allopurinolo	
Bromocriptina	
Metoclopramide	
Colchicina	
Amiodarone	

i livelli plasmatici in corso di uso contemporaneo di più farmaci (Tab. II).

Altro farmaco in grado di inibire la ciclofillina è il tacrolimus, macrolide che condivide lo stesso meccanismo d'azione della ciclosporina. Il suo utilizzo è limitato ai casi non *responder* alle altre terapie.

RITUXIMAB

Il rituximab è un anticorpo anti CD20, monoclonale chimerico, che contiene catene leggere e pesanti murine nella regione variabile e IgG umane nella regione costante. Questa configurazione consente di utilizzare una quantità minore di anticorpo murino per prolungare l'emivita del farmaco; inoltre, la regione costante delle IgG1 umane è stata selezionata per la sua capacità di fissare il complemento e di attivare la citotossicità cellu-

lare anticorpo-dipendente (33).

Il *target* del farmaco è una proteina transmembrana CD20 che si esprime virtualmente su tutte le cellule B mature e immature e sulle cellule B maligne ed è riscontrato in più dell'85% delle cellule che caratterizzano il linfoma non Hodgkin (34).

I meccanismi d'azione con cui il farmaco determina la deplezione dei linfociti B sono almeno di tre tipi: induzione dell'apoptosi attraverso l'attivazione della cascata delle caspasi e, in particolare, della caspasi 3; attivazione del complemento e, infine, attivazione della citotossicità Fc mediata. Componenti strutturali dell'*Fc receptor* sono espressi comunemente su monociti, macrofagi, granulociti e cellule *natural killer*. Un ulteriore quarto meccanismo d'azione consisterebbe nell'immediato arresto della crescita cellulare; inoltre, si ipotizza che il rituximab potrebbe avere un effetto direttamente sulle cellule T (34). Il risultato finale consiste nella mancata proliferazione dei linfociti B per sei nove mesi dalla somministrazione. Il rituximab, quindi, inibisce l'attivazione dei linfociti B e la produzione di citochine e di immunoglobuline. L'effetto determina un'incapacità di intervenire nella processazione dell'antigene per le cellule T e un'incapacità di differenziazione in plasmacellule (33).

Gli effetti collaterali più frequenti sono febbre e malessere alla prima somministrazione e sono molto meno frequenti nelle somministrazioni successive. In alcuni casi, si è osservata una sindrome da anticorpi antichimerici. Al momento non sono ancora state precisate le indicazioni alla terapia con rituximab, né vi è un consenso generale per quanto riguarda i tempi e le dosi di somministrazione.

In letteratura, tuttavia, sono riportati numerosi *case reports* che documentano l'efficacia del rituximab nel trattamento di alcune patologie e, in particolare, nella sindrome nefrosica steroide-resistente e/o dipendente da lesioni minime o da glomerulosclerosi focale, nella sindrome nefrosica da glomerulonefrite membranosa e nelle patologie autoimmuni sistemiche.

Il rituximab è stato utilizzato inizialmente per il trattamento della sindrome nefrosica in ambito pediatrico. Successivamente, il suo impiego si è diffuso anche nell'adulto con glomerulonefrite a lesioni minime *multirelapsing*. In un recente studio, nove pazienti sono stati trattati con rituximab alla dose di 375 mg/m², una volta a settimana per 4 settimane. La terapia è stata ben tollerata in tutti i pazienti e in 7 di essi è stata osservata una remissione completa e duratura della sindrome nefrosica (35).

In un altro studio, 15 pazienti con sindrome nefrosica da glomerulonefrite membranosa e rischio moderato-alto di progressione del danno renale verso l'insufficienza renale terminale sono stati trattati con rituximab alla dose di 375 mg/m² per quattro settimane. Tutti i pazienti avevano proteinuria all'inizio dello studio maggiore di 3.5 g, nonostante la terapia conservativa con ACE inibitori, una dieta iposodica e ipoproteica e statine. Dopo 12 mesi di *follow-up*, si osservava in 10 pazienti una remissione completa della malattia (proteinuria <500 mg). Da no-

tare che i pazienti che avevano raggiunto la remissione partivano da una migliore funzione renale e un più basso valore di proteinuria (36).

Nello studio RAVE 197 pazienti con vasculiti ANCA associate sono stati trattati con terapia convenzionale a base di steroidi e ciclofosfamide seguito da somministrazione di azatioprina e messi a confronto con 197 pazienti trattati con steroidi e rituximab. Si è osservato che in entrambi i gruppi veniva ottenuta una stabile remissione, ma con minori effetti collaterali nel gruppo trattato con rituximab (37).

Sono stati riportati piccoli studi osservazionali e casi clinici incoraggianti sull'uso del rituximab per il trattamento della nefrite lupica, qualora ciclofosfamide e micofenolato di mofetile non siano stati efficaci. L'esperienza più ampia riguarda 22 pazienti con nefrite lupica proliferativa focale o diffusa già trattati con la terapia classica (corticosteroidi e immunosoppressori). Il rituximab veniva somministrato alla dose di 0.5 g oppure 1 g ogni due settimane. Dopo tre mesi dalla prima somministrazione in 5 pazienti si osservava remissione completa (normale funzione renale, proteinuria <500 mg) e in 7 di essi si otteneva una remissione parziale (>40 per cento di miglioramento della funzione renale) (38).

Sono, tuttavia, necessari studi randomizzati di efficacia e tolleranza del farmaco a lungo termine. L'uso del rituximab potrebbe consentire la sospensione dello steroide dopo lunghi periodi o la riduzione del dosaggio in presenza di gravi effetti collaterali (39).

PLASMAFERESI

Questa tecnica si basa sulla capacità di un filtro a elevata porosità di rimuovere tramite la circolazione extracorporea alcune componenti dal plasma, comprese immunoglobuline e citochine. Si ottiene, così, la possibilità di rimuovere in 3-5 giorni qualunque sostanza patogena con peso molecolare nel *range* della *clearance* del filtro. Pertanto, la plasmateresi (o *plasma-exchange*) trova indicazione nelle patologie immuno-mediate in cui vi sia un fattore patogeno conosciuto, come gli anticorpi anti-membrana basale in corso di malattia di Goodpasture oppure gli anticorpi anti-metallo proteinasi (ADAMTS) della microangiopatia trombotica. Tuttavia, esistono alcune limitazioni che rendono limitato l'utilizzo della plasmateresi in ambito nefrologico. Infatti, di solito, gli agenti patogeni sono molteplici e non ben definiti o non chiaramente correlati direttamente al danno renale, come avviene nel *lupus* eritematoso. La tecnica aferetica viene comunque utilizzata nel trattamento delle fasi acute di crioglobulinemia per ridurre rapidamente la quantità di crioglobuline circolanti (40). Inoltre, in corso di rigetto di trapianto umorale, la plasmateresi è in grado di determinare una rapida riduzione degli anticorpi anti HLA. D'altro canto, la rimozione di immunoglobuline e di mediatori dell'infiammazione è associata a un aumentato rilascio di queste sostanze e,

TABELLA III - INDICAZIONI ALLA PLASMAFERESI NELLE PATOLOGIE RENALI

CATEGORIA I	CATEGORIA II	CATEGORIA III	CATEGORIA IV
Standard	Generalmente accettata	Non chiaramente indicata	Non indicata
Sindrome di Goodpasture	Crioglobulinemia	Glomerulosclerosi focale e segmentale ricorrente	Nefrite lupica
Porpora trombotica trombocitopenica	Glomerulonefrite rapidamente progressiva	Sindrome emolitico-uremica	Rigetto di trapianto renale*
	Insufficienza renale acuta dovuta al rene da mieloma	Vasculiti	Amiloidosi
		Lupus eritematoso sistemico	

*suggerita in corso di rigetto umorale

pertanto, è necessario l'utilizzo contemporaneo di steroidi e immunosoppressori.

L'*American Association of Blood Banks* insieme all'*American Society for Apheresis* hanno stabilito Linee Guida per l'indicazione terapeutica alla plasmateresi, suddividendo le condizioni da trattare in quattro categorie: categoria I, in cui il trattamento è di prima scelta, categoria II, in cui la plasmateresi ha un ruolo di supporto, categoria III, in cui non ci sono chiare dimostrazioni di utilità della tecnica, e categoria IV, in cui la plasmateresi non è efficace (41) (Tab. III).

CONCLUSIONI

Le indicazioni e le modalità d'uso dei farmaci immunosoppressori si basano quasi esclusivamente sui risultati clinici e sull'esperienza degli operatori e, talvolta, prescindono dalla conoscenza dei meccanismi d'azione dei farmaci.

È, quindi, necessario modificare l'approccio alla terapia delle patologie immuni, in questo caso renali, cercando di comprendere al meglio quali siano i meccanismi patogenetici del danno, ma anche le peculiarità dell'azione delle molecole (42).

Un dato che è ormai acquisito è che i diversi farmaci agiscono su molteplici processi della risposta immune con alcune caratteristiche peculiari. Questo fornisce il razionale all'uso diffuso di schemi terapeutici con associazioni di farmaci da somministrare contemporaneamente o in tempi successivi, consentendo di utilizzare dosi minori di farmaco e di limitare, quindi, la loro tossicità.

Il nostro atteggiamento terapeutico deve rimanere sempre prudente; bisogna soppesare il rapporto rischio-beneficio nel singolo paziente, che deve essere osservato con estrema attenzione, per cogliere i vantaggi e/o gli effetti indesiderati della terapia somministrata.

La ricerca di base e quella farmacologica forniranno, negli anni a venire, quegli elementi di conoscenza che permetteranno di poter prescrivere la terapia più appropriata sia per la patologia che per le caratteristiche individuali dei pazienti.

TEST DI VERIFICA

1) I meccanismi patogenetici delle glomerulonefriti coinvolgono:

- L'immunità umorale
- L'immunità cellulo-mediata
- Ambedue le vie immunitarie
- Nessun meccanismo immune
- Solo attivazione del complemento

2) I cortisonici espletano le loro azioni tramite:

- Modulazione delle sintesi proteiche
- Inibizione dell'azione dell' NFkB
- Attivazione di cascate enzimatiche
- Tutti i precedenti
- Nessuna delle precedenti

3) L'effetto citolitico diretto dei cortisonici sui linfociti si osserva:

- Con le dosi molto elevate
- Non vi è mai un effetto citolitico diretto
- Se lo steroide è utilizzato in associazione con immunosoppressivi
- Con le dosi molto basse
- Se utilizzato con la ciclosporina

4) Con quale meccanismo le cellule limitano la tossicità da ciclofosfamide

- Tramite l'attivazione del citocromo P450
- Non esistono meccanismi di detossificazione intracellulari per la ciclofosfamide
- Tramite l'ossidazione dei metaboliti della ciclofosfamide
- Per clivaggio enzimatico dei prodotti
- Nessuna delle precedenti

5) La differenza della risposta terapeutica e della sensibilità alla tossicità da ciclofosfamide potrebbe essere dovuta a:

- Polimorfismo degli enzimi preposti al metabolismo della molecola come i CYP
- Non si conosce nessun meccanismo
- La sensibilità è legata al sesso
- I pazienti con malattie sistemiche sono più esposti di quelli con glomerulo nefrite
- Tutte le precedenti

6) Qual è il motivo per cui i linfociti sono molto sensibili all'azione degli antimetaboliti

- Non posseggono vie di salvataggio per la formazione delle purine
- Non è vero che i linfociti siano particolarmente sensibili agli antimetaboliti
- Vengono inibite le modalità di interrelazione tra i B e i T
- Hanno un'alterazione della parete cellulare che li rende deboli
- Nessuna delle precedenti

7) Cosa accade se si somministrano contemporaneamente Azatioprina ed allopurinolo

- Per il blocco della xantina ossidasi aumentano i livelli dei metaboliti tossici dell'azatioprina
- Il blocco enzimatico determina una riduzione dei livelli dei metaboliti
- Non vi è alcuna interferenza tra i due farmaci
- La funzione renale peggiora nei pazienti che ricevono i due farmaci
- Si osserva aumento dei valori di pressione arteriosa

8) Gli effetti antiproteinurici della Ciclosporina sono dovuti a:

- Azione della CyA sulle citochine
- Interazione con la sinaptopodina
- Ambedue i precedenti
- Non si conoscono i meccanismi
- La ciclosporina non ha effetto antiproteinurico

9) Il rituximab determina lisi dei linfociti B attraverso:

- Apoptosi
- Citotossicità cellulo-mediata
- Attivazione del complemento
- Tutte le precedenti
- Nessuna delle precedenti

RIASSUNTO

I meccanismi patogenetici delle glomerulonefriti sono numerosi e complessi, coinvolgendo sia l'immunità umorale che quella cellulo-mediata. La capacità dei farmaci di interferire con i processi immuni è solo parzialmente nota. Ne deriva che la terapia delle glomerulonefriti è in gran parte empirica e si basa sui risultati clinici degli studi pubblicati. I corticosteroidi sono i farmaci più diffusamente utilizzati; il meccanismo d'azione degli steroidi è complesso e può essere modulato dalla dose impiegata.

Gli immunosoppressori impiegati nella terapia delle glomerulonefriti sono: gli agenti alchilanti come la ciclofosfamide e gli antimetaboliti come il micofenolato di mofetile e l'azatioprina, farmaci dotati di un potente effetto immunosoppressivo, ma gravati da numerosi effetti collaterali. La ciclosporina è un inibitore della calcineurina, appartiene alla classe degli immunomodulatori ed è in grado di interferire con la risposta immune. Un ulteriore gruppo di farmaci è quello degli anticorpi monoclonali, tra cui il più diffuso è il rituximab, anticorpo diretto verso la proteina CD20, espressa specificamente sulla superficie dei linfociti B. L'utilizzo è limitato ai casi in cui la terapia classica con steroidi e immunosoppressori non sia risultata efficace e i risultati clinici sembrano, al momento, promettenti.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

STUDI SPERIMENTALI SU ESSERI UMANI/ANIMALI

Gli Autori dichiarano di non aver effettuato studi sperimentali su esseri umani e/o animali e che le Figure e le Tabelle non sono soggette ad autorizzazioni.

BIBLIOGRAFIA

- Chadban SJ, Atkins RC. Glomerulonephritis. Lancet 2005; 365 (9473): 1797-80.
- Couser WG. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. Nephrol Dial Transplant 1998; 13 (Suppl. 1): 10-5.
- Nangaku M, Couser WG. Mechanisms of immune-deposit formation and the mediation of immune renal injury. Clin Exp Nephrol 2005; 9 (3): 183-91.
- Doyle MA, Turka LA. Immunosuppressive Therapy in Immunologic Renal Disease and Transplantation. In: Brady HR, Wilcox CS. Therapy in Nephrology and Hypertension, London: Saunders. 2003; 12: 103-12. (citazione di libro)
- Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for old drugs. N Engl J Med 2005; 353 (16): 1711-23.
- Immunosuppressive agents. In: Khan MM. Immunopharmacology, Springer 2008; 4: 99-101. (citazione da libro)
- Nagaich AK, Rayasam GV, Martinez ED, et al. Subnuclear trafficking and gene targeting by steroid receptors. Ann N Y Acad Sci 2004; 1024: 213-20.
- McKay LI, Cidlowski JA. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. Endocr Rev 1999; 20 (4): 435-59.
- De Bosscher K, Vanden-Berghe W, Haegeman G. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. Endocr Rev 2003; 24 (4): 488-522.
- Hafezi-Moghadam A, Simoncini T, Yang Z, et al. Acute car-

- diovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med* 2002; 8: 473-9.
11. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Manipulation of the Immune Response. In: *Immunobiology*, 5th edition. New York: Garland Science 2001 (NCBI Bookshelf).
 12. Lu NZ, Cidlowski JA. The origin and functions of multiple human glucocorticoid receptor isoforms. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1024: 102-23.
 13. Torrego A, Pujols L, Roca-Ferrer J, Mullol J, Xaubet A, Picado C. Glucocorticoid receptor isoforms alpha and beta in in vitro cytokine-induced glucocorticoid insensitivity. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 420-5.
 14. Canalis E, Delany AM. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 966: 73-81.
 15. Garside H, Stevens A, Farrow S, et al. Glucocorticoid ligands specify different interactions with NF-kappaB by allosteric effects on the glucocorticoid receptor DNA binding domain. *J Biol Chem* 2004; 279 (48): 50050-9.
 16. Hall AG, Tilby MJ. Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of hematological malignancies. *Blood Rev.* 1992; 6 (3): 163-73.
 17. Haubitz M, Bohnenstengel F, Brunkhorst R, Schwab M, Hofmann U, Busse D. Cyclophosphamide pharmacokinetics and dose requirements in patients with renal insufficiency. *Kidney Int* 2002; 61 (4): 1495-501.
 18. Takada K, Arefayene M, Desta Z, et al. Cytochrome P450 Pharmacogenetics as a predictor of toxicity and clinical response to pulse cyclophosphamide in lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50 (7): 2202-10.
 19. Monach PA, Arnold LM, Merkel PA. Incidence and prevention of bladder toxicity from cyclophosphamide in the treatment of rheumatic disease: a data driven review. *Arthritis Rheum* 2010; 62 (1): 9-21.
 20. Tiede I, Fritz G, Strand S, et al. CD28-dependent Rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human CD4 T lymphocytes. *J Clin Invest* 2003; (111): 1133-45.
 21. Hiemstra TF, Walsh M, Mahr A, et al. Mycophenolate mofetil vs azathioprine for remission maintenance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis *JAMA* 2010; (304): 2381-8.
 22. Houssiau F, D'Cruz D, Sangle S, et al. Azathioprine versus mycophenolate mofetil for long-term immunosuppression in lupus nephritis results from the MAINTAIN nephritis trial. *Ann Rheum Dis* 2010; (69): 2083-9.
 23. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanism of action. *Immunopharmacology* 2000; 47 (2-3): 85-118.
 24. Lipsky JJ. Mycophenolate mofetil. *Lancet* 1996; 348 (9038): 1357-9.
 25. Appel AS, Appel GB. An update on the use of mycophenolate mofetil in lupus nephritis and other primary glomerulonephritis. *Nature Clin Pract Nephrol* 2009; (3): 133-42.
 26. Sepe V, Libetta C, Giuliano MG, Adamo G, Dal Canton A. Mycophenolate mofetil in primary glomerulopathies. *Kidney Int* 2008; 73 (2): 154-62.
 27. McCune WJ. Mycophenolate Mofetil for Lupus Nephritis. *N Engl J Med* 2005; 353 (21): 2282-4.
 28. Clipstone NA, Grabtree GR. Identification of calcineurin as a key signaling enzyme in T-lymphocyte activation. *Nature* 1992; 357 (6380): 695-7.
 29. Liu J, Farmer JD Jr, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporine A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66 (4): 807-15.
 30. Mathieson PW. Proteinuria and immunity — an overstated relationship? *New Engl J Med* 2008; 359 (23): 2492-4.
 31. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P, et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: Workshop recommendations. *Kidney Int* 2007; 72 (12): 1429-47.
 32. Islam M, Burke JF Jr, McGowan TA, et al. Effect of anti-transforming growth factor-beta antibodies in cyclosporine-induced renal dysfunction. *Kidney Int* 2001; 59 (2): 498-506.
 33. Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene* 2003; (22): 7359-68.
 34. Salama AD, Pusey CD. Drug insight: rituximab in renal disease and transplantation. *Nature Clin Pract Nephrol* 2006; (2): 221-30.
 35. Bruchfeld A, Benedek S, Hildemar M, Medin C, Korkeila M. Rituximab for multirelapsing, steroid-dependent or steroid-resistant, minimal-change nephropathy — a report of nine adult cases. *Nephrology Rev* 2010; 2: e2.
 36. Fervenza FC, Cosio FG, Erickson SB, et al. Rituximab treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 2008; (73): 117-25.
 37. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363 (3): 221-32.
 38. Vigna-Perez M, Hernandez-Castro B, Paredes-Saharopoulos O, et al. Clinical and immunological effects of Rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Res Ther* 2006; 8 (3): R83.
 39. Ravani P, Magnasco A, Edefonti A, et al. Short-term effects of rituximab with steroid and calcineurin-dependent nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6 (6): 1308-15.
 40. Lockwood CM, Worledge S, Nicholas A, et al. Reversal of impaired splenic function in patients with nephritis or vasculitis (or both) by plasma exchange. *NEJM* 1979; 300: 524.
 41. Smith JW, Weinstein R, Hillyer KL, et al. Therapeutic apheresis: A summary of current indication categories endorsed by the AABB and the American Society for Apheresis. *Transfusion* 2003; 43: 820.
 42. Rovin BHR, McKinley AM, Birmingham DJ. Can we personalize treatment for kidney diseases? *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4 (10): 1670-6.