



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA

Direttore: Prof. Paolo Simioni

CLINICA DERMATOLOGICA

Direttore: Prof. Mauro Alaibac

TESI DI LAUREA

Risposta a Terapia ultra low dose con rituximab nel pemfigo volgare : studio retrospettivo

Relatore: Prof. Mauro Alaibac

Correlatore: Dott. Christian Ciolfi

Laureando: Ahmad Issa

Anno Accademico 2023-2024

INDICE

ABSTRACT	4
SINOSI	5
1 INTRODUZIONE	6
1.1 Malattie bollose autoimmuni	6
1.2 Meccanismi di coesione cutanea	7
1.2.1 Coesione intercheratinocitaria	7
1.3 Pemfigo	9
1.3.1 Pemfigo volgare	10
1.3.2 Epidemiologia	10
1.3.3 Patofisiologia	11
1.3.4 Clinica	13
1.3.5 Diagnosi	14
1.3.6 Trattamento	17
1.4 Rituximab	21
1.4.1 Terapia con Anticorpi monoclonali (mAbs)	21
1.4.2 Meccanismo d'azione di rituximab	21
1.4.3 Meccanismi d'azione ed effetti immunologici del rituximab	21
1.4.4 Effetti terapeutici del rituximab nel PV	22
1.4.5 Analisi comparativa: rituximab rispetto ad altre modalità di trattamento	23
1.4.6 Indicazioni e dosaggio del rituximab	23
1.4.7 Regimi a basso dosaggio di rituximab	24
2 SCOPO DELLO STUDIO	26
2.1 Obiettivo dello Studio	26
2.2 Obiettivo Secondario	26
3 MATERIALI E METODI	27
3.1 Disegno dello studio e popolazione oggetto di studio	27
3.2 Considerazioni etiche	27
3.3 Analisi statistica	27
4 RISULTATI	28
5 DISCUSSIONE	33
6 CONCLUSIONE	36
7 BIBLIOGRAFIA	37

ABSTRACT

1. Background: Pemphigus vulgaris is an autoimmune blistering disease affecting the skin and mucous membranes. Current treatments for pemphigus vulgaris include anti-inflammatory and immunosuppressive agents. Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody, has been shown to be effective for the treatment of pemphigus vulgaris. However, the optimal dosage of rituximab for the treatment of this autoimmune bullous disease has not been clearly defined. The aim of this study was to investigate the clinical efficacy and adverse effects of an ultra-low dosage regimen of rituximab for pemphigus vulgaris.

2. Aim of the study: The aim of this study is to evaluate the therapeutic response to ultra-low doses of rituximab in subjects affected by pemphigus vulgaris. To achieve this goal, data from the paper and electronic medical records of patients treated from 2018 to the present were collected and analyzed. The secondary objective was to assess the tolerability of the ultra-low dose of rituximab. To achieve this objective, adverse events reported following the therapy were collected.

3. Materials and methods: The study was conducted retrospectively using data from the E-Health Galileo application and paper medical records. It investigated ten patients with pemphigus vulgaris who received successful treatment with rituximab from 2018 to the present, according to authorized indications for moderate to severe conditions. Oral corticosteroids alongside rituximab were administered to all patients. Clinical and demographic data, as well as information on rituximab therapy and relapses, were collected. Since the study was retrospective and data were used in compliance with privacy legislation, ethical approval was not required. Median, range, and frequencies were used to describe the statistical analysis.

4. Results: The ultra-low dosage of rituximab could be an effective treatment for patients suffering from vulgar pemphigo, according to data from our collection of open non-randomized cases. All patients had clinical improvement and seven out of ten patients, or 70%, achieved complete remission. Early RTX treatment with a disease duration of less than 6 months is correlated with better total remission, shorter recovery time and longer recovery duration.

SINOSSI

1. Background: il pemfigo volgare è una malattia autoimmune bollosa che colpisce la pelle e le membrane mucose. I trattamenti attuali per il pemfigo volgare includono agenti antinfiammatori e immunosoppressori. Il rituximab, un anticorpo monoclonale anti-CD20, ha dimostrato di essere efficace per il trattamento del pemfigo volgare. Tuttavia, il dosaggio ottimale di rituximab per il trattamento di questa malattia autoimmune bollosa non è stato chiaramente definito. L'obiettivo di questo studio era di investigare l'efficacia clinica e gli effetti avversi di un regime di dosaggio ultra-basso di rituximab per il pemfigo volgare.

2. Scopo dello studio: Lo scopo di questo studio è di valutare la risposta terapeutica a dosaggi ultra-low di rituximab in soggetti affetti da pemfigo volgare. Per raggiungere questo obiettivo, sono stati raccolti e analizzati i dati contenuti nelle cartelle cliniche cartacee ed elettroniche di pazienti trattati dal 2018 al presente. L'obiettivo secondario è stato di valutare la tollerabilità del dosaggio ultra-low di rituximab. Per raggiungere questo obiettivo sono stati raccolti gli eventi avversi riportati in seguito alla terapia

3. Materiali e metodi: Lo studio è stato condotto retrospettivamente utilizzando i dati dell'applicazione E-Health Galileo e delle cartelle cliniche cartacee. Ha studiato dieci pazienti con pemfigo volgare che hanno ricevuto un trattamento efficace con rituximab dal 2018 al presente, secondo indicazioni autorizzate per condizioni moderate o severe. I corticosteroidi orali insieme a rituximab sono stati somministrati a tutti i pazienti. Sono stati raccolti dati clinici e demografici, nonché informazioni sulla terapia con rituximab e sulle recidive. Dato che lo studio era retrospettivo e che i dati venivano utilizzati in conformità con la legislazione sulla privacy, non era necessaria l'approvazione etica. La mediana, il range e le frequenze sono stati utilizzati per descrivere l'analisi statistica.

4. Risultati: Il dosaggio ultra-basso di rituximab potrebbe essere un trattamento efficace per i pazienti affetti da pemfigo volgare, secondo i dati della nostra raccolta di casi aperti non randomizzati. Tutti i pazienti hanno avuto un miglioramento clinico e sette pazienti su dieci, o il 70%, hanno raggiunto una remissione completa. Il trattamento precoce con RTX con una durata della malattia inferiore a 6 mesi è correlato a una migliore remissione totale, un tempo di recupero più breve e una durata di recupero più lunga.

1 INTRODUZIONE

1.1 Malattie bollose autoimmuni

Le malattie bollose autoimmuni sono caratterizzate dalla formazione di vesciche ed erosioni sulla pelle e le mucose, a causa dell'attacco del sistema immunitario ai complessi che mantengono la coesione della pelle (1). Questo porta alla perdita di funzione di tali strutture e all'insorgenza dei sintomi clinici (2).

La diagnosi delle patologie bollose si basa principalmente sui sintomi clinici evidenziati durante l'esame fisico. Ad esempio, la presenza di vesciche tese e prurito, soprattutto in soggetti anziani, può suggerire la presenza di pemfigoide bolloso, mentre vesciche flaccide e il segno di Nikolsky positivo possono essere indicativi di pemfigo volgare.

Tuttavia, per una diagnosi definitiva, è necessario eseguire la microscopia a immunofluorescenza diretta su campioni di tessuto prelevati dalle aree lesionate. Questo test permette di individuare la localizzazione e il tipo di autoanticorpi legati al tessuto, con IgG e/o C3. Nel caso del pemfigo, gli autoanticorpi si legano all'epidermide o all'epitelio, mentre nelle malattie da pemfigoide questo legame avviene a livello dermo-epidermico (figura 1).

È fondamentale per la diagnosi anche la microscopia ad immunofluorescenza indiretta, che valuta gli autoanticorpi presenti nel sangue. Per individuare gli autoanticorpi circolanti, vengono utilizzati substrati specifici ad elevata sensibilità diagnostica. Nel caso del pemfigo, vengono impiegati l'esofago di scimmia o cavia, mentre per il pemfigoide, viene utilizzata una sezione dermo-epidermica di cute umana pretrattata con NaCl 1M.

Recentemente, è stato introdotto nella pratica clinica l'utilizzo del test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), che utilizza proteine ricombinanti per rilevare eventuali autoanticorpi circolanti. Questo test consente una valutazione accurata sia qualitativa che quantitativa, migliorando così la diagnosi e il monitoraggio delle patologie bollose autoimmuni (3).

Malattia	Pelle	Mucosa	Segno Nikolskij*	DIF**	IIF	Autoantigene
Pemfigoide bolloso	+	-	II	BMZ	BMZ	BP180
Pemfigo volgare	+/-	+	IO	CWP	CWP	Dsg3 +/- Dsg1
Pemfigo foliaceo	+	-	IO	CWP	CWP	Dsg1

*Il segno Nikolsky I è il classico segno Nikolsky; il segno Nikolsky II alternativo era originariamente descritto come il segno Asboe-Hansen.

**BMZ: zona della membrana basale; BP: pemfigoide bolloso; CWP: modello a filo di pollo; DIF: immunofluorescenza diretta; Dsg: desmoglein; IIF: immunofluorescenza indiretta.

Figura 1 – Caratteristiche cliniche e di laboratorio delle dermatopatie bollose. Tratto da: Damoiseaux J. Bullous Skin Diseases: Classical Types of Autoimmune Diseases. Scientifica [Internet]. 2013 [citato 20 aprile 2023];2013:457982. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3820359/>

Sulla base dei criteri clinici, istopatologici e immunopatologici, le dermatopie bollose autoimmuni possono essere distinte principalmente in due categorie: le forme vescicolari subepidermiche, che includono il pemfigo, e le forme vescicolari subepidermiche, di cui fa parte il pemfigoide.

Il pemfigo è caratterizzato dalla formazione di vesciche dovute alla produzione di autoanticorpi diretti contro le proteine desmosomiali Dsg1 e Dsg3, compromettendo così la coesione tra le cellule della pelle. Il pemfigoide, d'altra parte, è caratterizzato dall'autoimmunità diretta verso le proteine degli emidesmosomi BP180 e BP230, causando vesciche subepidermiche e danneggiando l'integrità tra la pelle e il derma sottostante (4).

Questa distinzione è cruciale per una diagnosi precisa e un trattamento mirato delle dermatopie bollose autoimmuni.

1.2 Meccanismi di coesione cutanea

La cute rappresenta un'interfaccia multistrato tra organismo e ambiente, la cui integrità è fondamentale per garantire le diverse funzioni fisiologiche della stessa, tra cui il ruolo di barriera. (5)

1.2.1 Coesione intercheratinocitaria

Nel contesto degli epitelii, l'adesione intercheratinocitaria è garantita dalle giunzioni cellula-cellula specializzate, che possono essere distinte in:

- Giunzioni gap (GJ)
- Giunzioni strette (TJ)
- Giunzioni aderenti (AJ)
- Desmosomi (6)

Queste strutture sono caratterizzate dalla presenza sia di molecole di adesione che facilitano il contatto con le cellule adiacenti, sia di proteine citoplasmatiche che organizzano i complessi di segnalazione e forniscono un collegamento meccanico al citoscheletro di actina (o ai filamenti intermedi, nel caso dei desmosomi). Le proteine strutturali del citoplasma possono anche agire come connettori temporanei tra più complessi proteici, il cui contenuto può variare in base alla maturazione e all'integrità giunzionale, contribuendo alla formazione di entità sovramolecolari dinamiche (7).

● Giunzioni gap

Le giunzioni gap sono complessi giunzionali presenti nella pelle, composti da connessioni che derivano dall'oligomerizzazione di sei connesine, che possono essere di tipo omotipico o eterotipico. Nella pelle, le connesine predominanti includono CX26, CX43, CX30, CX30.3, CX31, conosciute anche come GJB2, GJA1, GJB6, GJB4, GJB3. Questi connessioni si uniscono con il loro corrispettivo partner sulla cellula adiacente, creando un canale permeabile che permette il trasporto intercellulare di ioni e altre piccole molecole. (8)

- **Giunzioni Strette (TJ) :**

Le giunzioni strette sono strutture a forma di cintura localizzate sulla parte superiore delle cellule granulari. Svolgono due importanti funzioni: la prima è di agire come barriera sotto lo strato corneo per impedire la diffusione dei lipidi e delle proteine attraverso la membrana, garantendo così una distribuzione asimmetrica della composizione della membrana tra la parte superiore e inferiore della cellula (polarità)(9).

La seconda funzione è quella di regolare la permeabilità paracellulare per ioni e piccoli soluti, il che varia in base alle esigenze specifiche dell'organo, contribuendo alla sua funzione specifica.(10)

- **Giunzioni aderenti (AJ) :**

Le giunzioni aderenti sono costituite da caderine classiche che collegano le cellule adiacenti attraverso interazioni omofiliche dipendenti dal calcio. Queste caderine si ancorano al citoscheletro tramite le catenine, proteine che si legano alla porzione citoplasmatica delle caderine. Si forma così una rete di filamenti di actina che attraversa le cellule, con le complesse caderine-catenine che agiscono come connettori dei fasci di filamenti di actina tra le cellule adiacenti. La funzionalità delle caderine dipende dalla presenza di calcio, e la diminuzione del calcio disponibile porta alla perdita di adesione e a un arrotondamento delle cellule, nonostante l'integrità delle altre molecole coinvolte, che non dipendono dal calcio.(11)

- **Desmosomi :**

I desmosomi sono complessi proteici formati da tre famiglie geniche: caderine, proteine dell'armadillo e plakin. Le caderine transmembrana, chiamate desmogleine (Dsgs 1-4) e desmocolline (Dscs 1-3), costituiscono l'interfaccia adesiva dei desmosome (12), mentre le loro code interagiscono con plakoglobin (PG), plakophilins (PKPs 1-3) e p007 (13).

Desmoplakin (DP) stabilizza i desmosomi collegando i filamenti intermedi del citoscheletro alla membrana plasmatica tramite PG e PKP(14). Le interazioni laterali della giunzione contribuiscono alla stabilità dei desmosome (15).

La struttura dei desmosomi comprende una placca densa esterna, vicina alla membrana cellulare, dove plakoglobin e plakophilins si legano alle code citoplasmatiche delle caderine desmosomiali; e una placca densa interna, dove la coda della desmoplachina si lega alle cheratine.(16) (figura 2) .

Oltre al ruolo strutturale, i desmosomi sono coinvolti nella segnalazione cellulare e interagiscono con chinasi e proteasi, contribuendo così a regolare varie funzioni cellulari.(17)

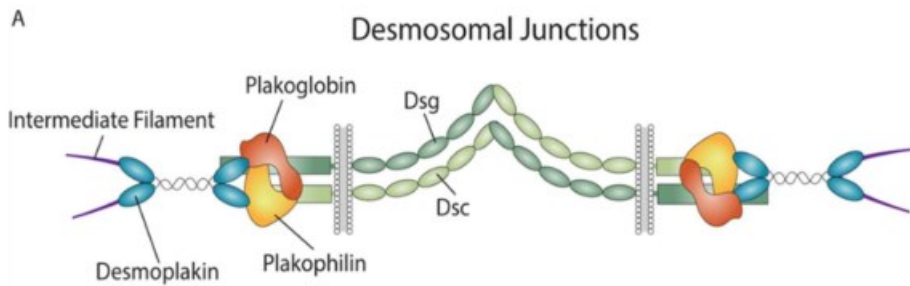


Figura 2 – Il complesso desmosoma-filamento intermedio. Tratto da: Green KJ, Roth-Carter Q, Niessen CM, Nichols SA. Tracing the Evolutionary Origin of Desmosomes. *Curr Biol.* 2020 May 18;30(10):R535-R543. doi: 10.1016/j.cub.2020.03.047. PMID: 32428495; PMCID: PMC7310670.

I desmosomi in vivo mostrano iperadesione, rendendoli insensibili al calcio extracellulare. Questo fenomeno è attribuito alla disposizione ordinata dei domini extracellulari delle caderine desmosomiali, che trattenendo il calcio conferiscono una forte resistenza alla rottura dei legami. Tuttavia, la proteina chinasi C (PKC) può ridurre significativamente l'iperadesione, alterando l'impacchettamento dei domini extracellulari e riducendo così la stabilità dei legami. Questo processo è osservabile nell'epitelio del margine della ferita, dove si registra una down-regolazione dell'iperadesione. Inoltre, si nota che la PKC α si dissocia gradualmente dalla placca desmosomiale durante la transizione verso uno stato indipendente dal calcio, mentre in condizioni di dipendenza dal calcio, la PKC α si trasloca verso i siti di adesione.

1.3 Pemfigo

Il pemfigo è un gruppo di malattie autoimmuni caratterizzate dalla presenza di autoanticorpi IgG che prendono di mira le desmogleine, specificamente la Dsg1 e la Dsg3, due glicoproteine cruciali della struttura dei desmosomi, con pesi molecolari di 130 e 160 kDa rispettivamente (figura 3).

Le varianti più comuni di pemfigo sono il pemfigo volgare (PV) e il pemfigo foliaceo (PF). Nel PV, gli autoanticorpi si legano inizialmente alla Dsg3 e successivamente, in misura minore, alla Dsg1, mentre nel PF colpiscono solo la Dsg1. Questa distinzione porta a manifestazioni cliniche diverse, con la formazione di bolle all'interno dell'epidermide nel PV e superficialmente nel PF, a livello subcorneo. Altri anticorpi diretti contro le desmocolline (Dsc) possono essere presenti, ma sono rilevati in una percentuale inferiore al 5% [18].

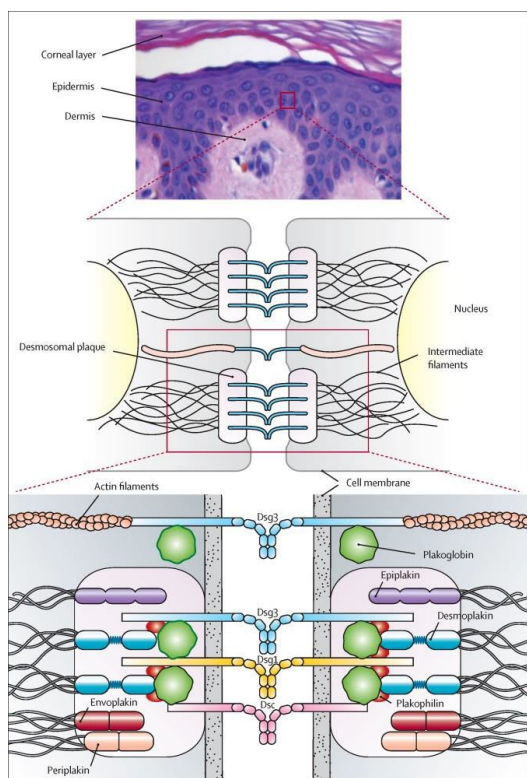


Fig. 3. Illustrazione schematica del desmosoma epidermico. Sono raffigurate le interazioni omofile ed eterofile tra desmogleine e desmocolline. Dsg= desmogleina Dsc=desmocollina. (Tratto da: Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P. Pemphigus. The Lancet. 7 settembre 2019;394(10201):882–94)

1.3.1 Pemfigo volgare

La diffusione del PV e del PF varia nelle differenti regioni. Nello specifico, in Europa e in Nord America, il 65-90% dei casi di pemfigo sono di PV. Il foliaceo è invece più diffuso del volgare in Sud America e in Nord Africa.

Le più alte incidenze di PV si osservano in Iran (16.0 per milione), in Israele (16.1 per milione) e in Connecticut (32.0 per milione).

In relazione all'età di comparsa, il pemfigo può esordire in ogni età, con una prevalenza della fascia compresa tra i 45 e i 65 anni. Il sesso femminile è tipicamente più colpito [19].

1.3.2 Epidemiologia

A livello globale, la distribuzione del pemfigo volgare è disomogenea, fatto in parte dovuto a fattori genetici, in parte a fattori ambientali, con una frequenza maggiore nelle popolazioni mediterranee ed ebraiche

ashkenazite. Si è osservato come in queste ultime ci sia una forte correlazione con HLA- DRbeta1*04 e HLA-A*10. [20] Al contrario, nel pemfigo che si manifesta nella popolazione italiana, austriaca e giapponese, prevale l'allele HLA-DRbeta*1401. Per quanto riguarda il PV nel territorio europeo, in Finlandia osserviamo un'incidenza di 0.8 casi per milione all'anno [21], in Svizzera 0,6 casi per milione all'anno [22], in UK 6.8 casi per milione all'anno [23], in Grecia 8 casi per milione all'anno [24], In Germania gli stranieri presentano circa 6 volte l'incidenza del PV rispetto ai nativi tedeschi. [25] Uno studio retrospettivo di coorte condotto da Micali indica l'incidenza del PV in Sicilia di 6 casi per milioni all'anno. [26] Per quanto riguarda i paesi extraeuropei l'incidenza in Tunisia è di 2.4 casi per milione all'anno [27] e in Israele di 16.1 casi per milione all'anno. [28] Negli Stati Uniti la popolazione ebraica ashkenazita presenta 8 volte l'incidenza del PV rispetto alla popolazione generale. [29] L'incidenza è in crescita con un tasso di incidenza pari all'11% all'anno in UK. [30] La prevalenza è stimata a 94.8 /milione di abitanti. [31] La malattia compare in più dell'80% dei casi durante la quinta decade, con un picco di età compreso tra la quarta e la sesta decade di vita, ma può manifestarsi anche negli anziani o nei bambini. [32] Il PV è generalmente più comune nelle femmine rispetto ai maschi, il rapporto maschi-femmine è compreso tra 1,1 e 2,3.

1.3.3 Patofisiologia

Come è già stato accennato, centrale nella genesi della patologia è lo sviluppo di autoanticorpi IgG rivolti contro i desmosomi; nello specifico, i bersagli antigenici nel PV e nel PF, sono le desmogleine, glicoproteine appartenenti alla superfamiglia delle caderine e facenti parte del complesso desmosomiale. In particolare, nel PV gli autoanticorpi sono diretti contro la desmogleina 3 e 1, mentre nel PF contro la sola desmogleina 1.

Tali molecole si caratterizzano per una differenza distribuzione a livello cutaneo e mucosale:

- a livello cutaneo sono ambo espresse, tuttavia la Dsg1 è presente in tutti gli strati dell'epidermide, con predominanza nel versante superficiale, mentre la Dsg3 esclusivamente negli strati profondi;
- a livello mucoso la Dsg1 è minimamente espressa, con predominanza della Dsg3.

La localizzazione dell'eruzione bollosa, caratteristica del pemfigo, varia in base al sottotipo considerato, e ciò può essere spiegato facendo riferimento alla teoria della compensazione della desmogleina, per cui la presenza di un solo tipo di Dsg è sufficiente per impedire il manifestarsi della malattia a livello cutaneo e/o mucoso.

nel PF si osserverà un'eruzione vescicolosa superficiale cutanea, senza alcun coinvolgimento mucosale; al contrario, in pazienti con PV, nel caso in cui si abbiano solo anticorpi anti Dsg3, si

osserverà un esclusivo coinvolgimento mucosale, mentre in presenza di anticorpi rivolti sia contro Dsg1 sia contro Dsg3, il coinvolgimento sarà muco-cutaneo [33].

Tale perdita di coesione cellulare prende il nome di acantolisi. Molteplici meccanismi sono stati descritti per spiegare questo fenomeno; in particolare, si presume che questo sia conseguente a un'alterazione delle vie di segnalazione mediate dalla MAP-chinasi, p38, PKC, JNK, RhoA, ediverse caspasi, fondamentali nella regolazione del citoscheletro e della funzione dei desmosome [34].

Un'altra teoria sottolinea come il meccanismo apoptotico sia implicato nel favorire la dissociazione cellulare, sebbene non strettamente necessario, visto lo sviluppo di acantolisi anche in assenza di apoptosi [35].

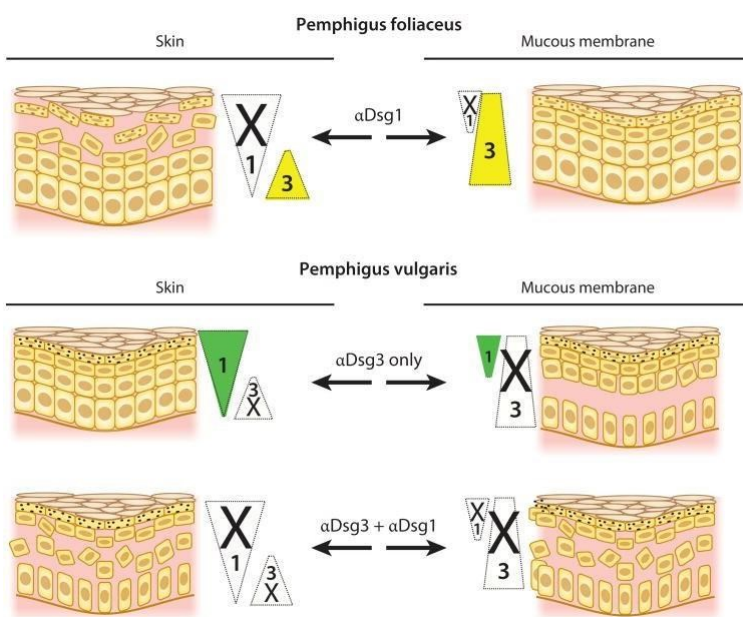


Figura 4 - Teoria della compensazione nel pemfigo: i triangoli rappresentano le comuni localizzazioni di Dsg1 e Dsg3 su cute e mucose; lo spessore del triangolo è indicativo della quantità di Dsg su ciascun livello cellulare. Un triangolo bianco segnala la perdita di funzione di una determinata Dsg in conseguenza alla presenza di anticorpi anti-Dsg1 e/o anti-Dsg3. Laddove Dsg1 o Dsg3 sia inattivata, e non sia presente l'altra Dsg a compensare, si sviluppa una lesione. Tratto da: Hammers CM, Stanley JR. Mechanisms of Disease: Pemphigus and Bullous Pemphigoid. *Annu Rev Pathol.* 2016 May 23;11:175-97

1.3.4 Clinica

Come prima accennato, il PV ha due forme distinte. Una è caratterizzata da un coinvolgimento esclusivamente mucosale, mentre l'altra ha coinvolgimenti sia mucosi che cutanei. In entrambi i casi si verifica un'eruzione vescicolare dolorosa che porta a ulcere.

Di solito non ci sono cicatrici, ma è possibile che si noti un'iperpigmentazione post-infiammatoria. Il sito di interessamento mucosale più comune è il cavo orale, ma potrebbero essere coinvolti anche altri siti, come l'occhio, il naso, l'esofago e l'area genitale. Quindi, i sintomi del pemfigo possono includere irritazione oculare, disfagia, disfonia, irritazione vaginale e dispareunia.[33].

Le manifestazioni cutanee si localizzano invece preferenzialmente a livello del cuoio capelluto, collo, ascelle e parte superiore del tronco [36].



Figura 5 – Pemfigo volgare: tipica eruzione vescicolare, con esiti in erosioni crostose.

Tratto da:

Malik AM, Tupchong S, Huang S, Are A, Hsu S, Motaparathi K. An Updated Review of Pemphigus Diseases. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Oct 9;57(10):1080

Da un punto di vista dell'esame obiettivo, molto utile è la ricerca del segno di Nikolsky, positivo in caso di pemfigo, necrolisi epidermica tossica e della sindrome della cute ustionata da stafilococco; tale segno permette infatti di distinguere un'eruzione bollosa intraepidermica da una subepidermica. Nello specifico, in tale patologie si osserva come andando ad applicare una pressione a livello di una bolla, si verifichi una desquamazione cutanea e un aumento delle dimensioni della bolla [37]

Pemfigo foliaceo

Come già accennato, in questo caso si osserva un esclusivo coinvolgimento cutaneo, con risparmio mucosale; sono nello specifico coinvolte prevalentemente aree seborroiche, quali il cuoio capelluto, il viso e la regione superiore del tronco. Clinicamente si riscontrano vescicole sparpagliate, che danno luogo a erosioni crostose su base eritematosa. Le lesioni sono più superficiali rispetto a quelle del PV,

con coinvolgimento esclusivo dello strato corneo. Anche in questo caso il segno di Nikolsky è positivo [33].



Figura 6- Pemfigo foliaceo. Coinvolgimento del cuoio capelluto. Tratto da: Malik AM, Tupchong S, Huang S, Are A, Hsu S, Motaparathi K. An Updated Review of Pemphigus Diseases. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Oct 9;57(10):1080

1.3.5 Diagnosi

La diagnosi di PV è fondata sull'adempimento dei tre seguenti criteri:

1. Clinica del paziente
2. Biopsia
3. Riscontro di autoanticorpi mediante immunofluorescenza diretta e indiretta

Utile è inoltre lo svolgimento del test ELISA, di seguito poi approfondito.

1.3.5.1 Biopsia

All'esame biotico di una bolla si riscontrano le seguenti caratteristiche:

- clivaggio intraepidermico con acantolisi sovrabasale
- discheratosi dello strato granuloso
- infiltrato dermico di eosinofili, linfociti e neutrofili, associato a dilatazione del capillari del derma papillare [37].

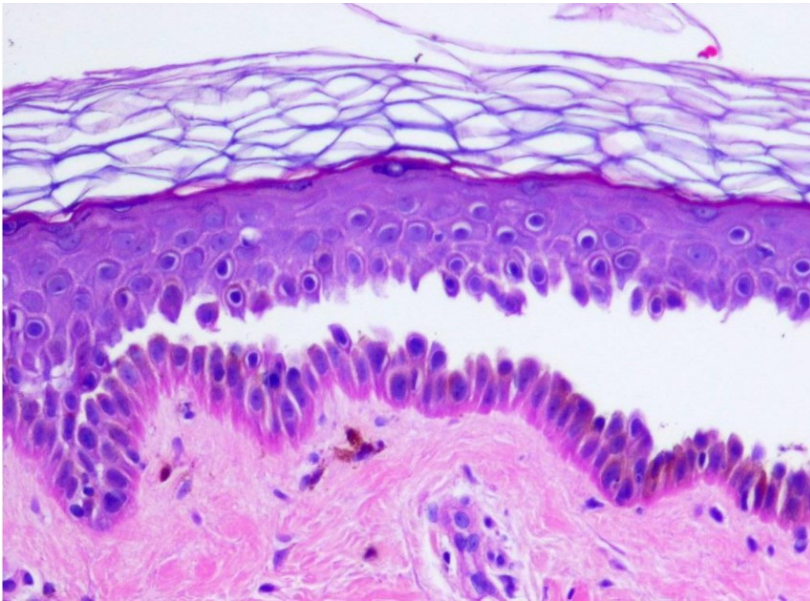


Figura 7 - Esame istopatologico di un caso di pemfigo volgare . Evidenza di bolla intraepidemiale conseguente ad acantolisi. Tratto da: James KA, Culton DA, Diaz LA. Diagnosis and clinical features of pemphigus foliaceus. *Dermatol Clin.* 2011 Jul;29(3):405-12, viii.

1.3.5.2 Immunofluorescenza

L'immunofluorescenza è una metodica che si basa sulla reazione antigene-anticorpo marcato, al fine di rilevare specifici antigeni bersaglio. Questa tecnica non solo è in grado di confermarci il sospetto clinico, ma costituisce anche la base su cui possono essere effettuati test di livello superiore come ELISA e immunoblotting (IB).

L'immunofluorescenza diretta valuta il legame degli anticorpi ai complementari antigeni in vivo su un campione bioptico. È il gold standard della diagnosi. Nel caso dell'immunofluorescenza diretta, il prelievo bioptico deve essere ottenuto dalla cute perilesionale (Fig. 8), poiché i depositi autoanticorpali a livello di pelle infiammata o con vescicole vengono parzialmente o completamente degradati, il che porta a un risultato falsamente negativo. Alcuni parametri sono utilizzati per interpretare i risultati: siti di deposizione primaria, come la colorazione intercellulare ICS o la zona della membrana basale BMZ, la classe di immunoglobuline, la modalità di deposizione degli anticorpi (lineare o granulare), il numero di deposizioni immunitarie e i siti di deposizione secondari. (38)

Nelle diverse varianti di pemfigo il DIF della cute perilesionale mostrerà un legame reticolare di IgG (anti Dsg3 ed eventualmente anche anti Dsg1 nel caso di forma mucocutanea) e/o C3 a livello della superficie dei cheratinociti epidermici. (Fig. 13) Nel pemfigo paraneoplastico i depositi lineari (differentemente da PV e PF) di IgG e/o C3 possono essere rilevati sulla superficie dei cheratinociti epidermici e lungo la giunzione dermo-epidermica solo in meno del 50% dei casi. Nel caso specifico del pemfigo IgA si rilevano invece immunoglobuline IgA. (40)

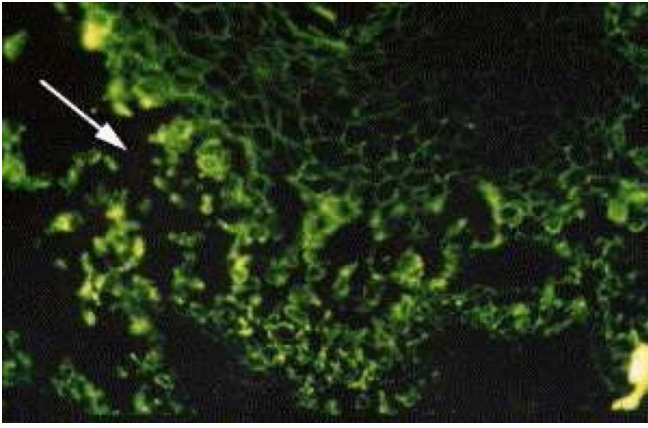


Figura 8 - Immunofluorescenza diretta in un caso di pemfigo volgare. Si vede il patognomico pattern a rete. Tratto da: Ettlín DA. Pemphigus. *Dent Clin North Am* 2005;49:107

L'immunofluorescenza diretta rileva la controparte legata al tessuto, ma l'immunofluorescenza indiretta rileva la percentuale di autoanticorpi circolanti nel siero del paziente. Il pattern reticolare della reattività della superficie delle cellule epiteliali con gli anticorpi IgG è distintivo (Fig. 9). In genere, l'esofago delle scimmie viene utilizzato come substrato.

I modelli per l'esecuzione della IIF, seppur somiglianti a quelli utilizzati nel caso della DIF, sono caratterizzati da minore sensibilità. Nel contesto delle dermatosi bollose autoimmuni l'utilizzo di pelle umana a spessore parziale divisa in sale, ossia incubata in NaCl 1M, permette di ottenere una spaccatura a livello della giunzione dermo-epidermica e quindi di effettuare diagnosi differenziale tra pemfigo, pemfigoide anti-laminina y e epidermolisi bollosa. Nel primo caso rileveremo fluorescenza sul versante epidermico, mentre negli ultimi due casi su quello dermico.[41]. La procedura prevede di diluire il siero del paziente 1:20 e di incubarlo con il substrato. Vengono quindi addizionati anticorpi secondari anti IgG umani coniugati con isotiocianato di fluorescina. Il risultato corrisponderà al titolo maggiore a cui viene ancora osservata la fluorescenza, valutata tramite epiluminescenza. Nel pemfigo si osserva prevalenza di IgG4, mentre le IgG1 sono invece di più comune riscontro nel PV cronico. [42]

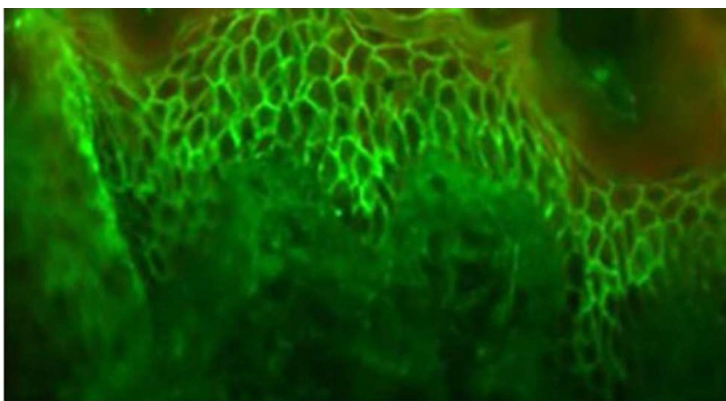


Figura 9– Immunofluorescenza indiretta con IgG intraepiteliale intercellulare. Tratto da: Porro AM, Seque CA, Ferreira MCC, Enokihara MMSES. *Pemphigus vulgaris*. *An Bras Dermatol*. 2019 Jul 29;94(3):264-278. doi:10.1590/abd1806-4841.20199011. PMID: 31365654; PMCID:PMC6668932.

1.3.5.3 Test sierologici di conferma

I test sierologici di conferma rappresentano l'ultimo step nella diagnosi del pemfigo.

Per quanto riguarda il test sierologico ELISA (Enzyme- Linked –Immunesorbent Assay) nel contesto del pemfigo, esso rileva autoanticorpi IgG anti desmogleina 1 (PF/PV mucocutaneo) e anti desmogleina 3 (PV mucoso o mucocutaneo). Risulta quindi particolarmente utile per porre diagnosi differenziale tra PV e PF.

Le proteine ricombinanti Dsg3 e Dsg1 sono prodotte dall'espressione di Baculovirus ed utilizzate per la caratterizzazione anticorpale.

ELISA è un test molto sensibile e specifico nella rilevazione di IgG anti Dsg1 e IgG anti Dsg 3. Si tratta di un metodo quantitativo il cui risultato dimostra una buona correlazione con la gravità clinica e può essere utile nell'ambito del follow up. (43) ELISA inoltre si è dimostrato superiore all'IF indiretto eseguito su esofago di scimmia. (44)

Successivamente all'esecuzione del saggio è possibile trovarsi davanti a diversi scenari: forma cutanea dominante di PV in cui si rilevano preferenzialmente anticorpi anti Dsg1, PV mucoso dominante in cui vi è la positività per anticorpi anti Dsg3 e la forma mucocutanea con positività di entrambi i profili anticorpali. Nel PF si hanno solo IgG anti Dsg1. Tuttavia la valutazione di IgG e IgA sieriche contro Dsg non ha un ruolo rilevante nella diagnosi di PF e PV.

1.3.6 *Trattamento*

L'obiettivo del trattamento è indurre e mantenere la remissione della malattia.

I corticosteroidi sistemici rientrano all'interno della terapia di prima linea nel trattamento del pemfigo e ne può essere combinata l'assunzione ad adiuvanti immunosoppressivi come l'azatioprina o il micofenolatomofetile.

I corticosteroidi esplicano la loro azione attraverso l'aumento della produzione di citochine antiinfiammatorie e l'inibizione della produzione della corrispondente quota proinfiammatoria interagente con il recettore citoplasmatico dei corticosteroidi. Il risultato dell'interazione tra steroidi e recettore citoplasmatico sarà la riduzione dell'espressione dei fattori di trascrizione e delle molecole coattivatrici come NF-Kb e proteina attivatrice 1. Si avrà anche la down regulation di IL-2 che causa secondariamente una riduzione dell'espansione dei cloni B produttori di anticorpi, oltre che inibizione della proliferazione cellulare T. Gli effetti complessivi saranno antinfiammatori, immunosoppressivi, antiproliferativi e

vasocostrittori. (45)

La dose giornaliera che viene impostata inizialmente è variabile, dai protocolli è indicato 1 mg/Kg e se il controllo non è raggiunto entro tre settimane si aumenta il dosaggio a 1.5 mg/Kg/die. Al raggiungimento del controllo della malattia, le dosi andrebbero ridotte del 25% a settimane alterne. (46)

Dal punto di vista della gestione clinica in termini di tasso di recidiva e durata delle remissioni non si sono evidenziate differenze nei pazienti trattati con terapia corticosteroidica ad alte (120-180 mg/die) o basse dosi (40-60 mg/die). Dalla letteratura emerge come la terapia ad impulsi per via e.v. non dia effettivamente un beneficio aggiuntivo rispetto alla terapia convenzionale con prednisone orale e immunosoppressivi e dovrebbe essere presa in considerazione nel momento in cui la dose necessaria si rivelasse superiore a 100 mg/die. (47)

Tra gli effetti collaterali legati alla terapia steroidea cronica ricordiamo una maggiore suscettibilità infettiva, insufficienza surrenalica secondaria, osteoporosi, iperglicemia, ipertensione e sviluppo di cataratta precoce. Per questo motivo è indicato procedere al trattamento con le dosi minime che garantiscono il controllo della malattia e per il minor tempo possibile. (48)

Immunosoppressori adiuvanti Tali farmaci vengono utilizzati come risparmiatori di corticosteroidi per ridurre gli effetti collaterali come ipertensione arteriosa, iperglicemia, cataratta, glaucoma e osteoporosi.

La scelta del trattamento d'attacco dipende dall'attività della malattia:

- **Nelle forme molto attive ed estese**, come bolle diffuse, alti livelli di anticorpi e segni di Nikolski netto, è preferibile utilizzare un trattamento che consenta una rapida remissione: alle dosi elevate di prednisone per via orale (fino a 3 mg/kg/die)[49]. Le perfusioni endovenose di metilprednisone (15-20 mg/kg/die per 3 giorni) o "boli" sono più diffuse. Queste perfusioni vengono subito associate a immunosoppressori per os, come azatioprina, che viene somministrato a 100-150 mg/die [è tutt'altro che un farmaco difficile da maneggiare, sicuramente meno del metotrexate e della ciclofos]. Le forme resistenti agli steroidi possono portare al ricorso allo scambio plasmatico[50]. Sembra che la ciclosporina non abbia effetti attivi[51].Dopo la remissione, la terapia continua come nelle forme poco attive.
- **Nelle forme poco attive**, Il trattamento a giorni alterni può essere utilizzato immediatamente nelle forme poco attive: prednisone 40 mg un giorno su due, associato ad azatioprina, 100-150 mg/ die .[49,52]

Il trattamento di mantenimento prende prednisone (40 mg ogni due giorni) e azatioprina (100-150 mg/die). Per ottenere una remissione stabile, lo scopo è utilizzare la dose di steroidi più bassa possibile. Quindi, alcuni suggeriscono di ridurre o persino sospendere il prednisone con sali d'oro per via orale [53]o

parenterale. Il trattamento deve essere continuato fino a quando non si verifica una completa remissione, sia clinica che biologica, quando non ci sono più anticorpi circolanti[54]. Ciò può richiedere più anni. Le lesioni cliniche saranno oggetto di monitoraggio. Le erosioni del cavo orale sono più complesse e richiedono più tempo per guarire; la rapida scoperta delle complicanze iatrogene; il tasso degli anticorpi circolanti, che riattiva la malattia in modo efficace.

1.3.6.1 Aduvanti di prima linea

1.3.6.1.1 Azatioprina

Il dosaggio iniziale di azatioprina, che è un antagonista delle purine, è di 50 mg due volte al giorno. La nostra esperienza clinica suggerisce di iniziare con una dose di 25 mg/die e poi aumentarla ogni due settimane in base ai valori di emocromo, GOT, GPT, GGT, bilirubina totale e diretta, amilasi e lipasi pancreatiche per raggiungere il dosaggio ideale di 1,3 a 1,5 mg/kg/die fino a 3 mg/kg/die. La risposta terapeutica viene valutata dopo circa sei a dieci settimane. Dal punto di vista del meccanismo d'azione, AZA è un agente immunosoppressivo assunto in forma di profarmaco, che si trasforma in 6-mercaptopurina e avente diversi effetti sistemici come: la riduzione del metabolismo delle purine con deficit di substrati per la produzione di DNA, RNA che quindi non garantiscono più un'adeguata sintesi proteica, la riduzione della mitosi, l'induzione dell'immunosoppressione con calo di monociti, cellule di Langerhans, soppressione dell'attività dei linfociti T e B e della produzione di IgG. [54]

In un randomised controlled trial è stato selezionato un campione di pazienti con PV e si è valutata la terapia combinata di corticosteroidi e AZA adiuvante, dove si è visto come la combinazione garantisca un maggiore risparmio corticosteroidico rispetto alla sola terapia con steroidi o ad una terapia di associazione con micofenolato mofetile. (55) In un precedente studio randomizzato controllato al follow up ad 1 anno, l'assunzione di AZA adiuvante (2,5 mg/Kg/die) rispetto alla sola terapia con corticosteroidi ha garantito una significativa riduzione dell'attività di malattia nel gruppo che assumeva solo AZA, oltre che risparmio di steroidi assunto, in entrambi i casi negli ultimi tre mesi. (56) Poiché una bassa o nulla attività dell'enzima che metabolizza l'azatioprina (TPMT, tiopurina-metiltransferasi) può causare un accumulo del composto 6-tioguanina nucleotidica, che può causare effetti tossici come epatite colestatica, mielosoppressione severa, pancreatite e tossicità gastrica, sarebbe necessario dosare l'enzima che metabolizza l'azatioprina.

1.3.6.1.2 Micofenolato

Il micofenolato, un antagonista della sintesi del DNA, può essere assunto per via orale a dosaggi di 2 g/die (capsule di micofenolato mofetile da 250/500 mg) o 1440 mg/die (capsule di micofenolato sodico da 180/360 mg; 360 mg di micofenolato sodico equivalgono a 500 mg di micofenolato mofetile). Il risultato è visibile in tre a sei mesi. Gli effetti collaterali più comuni sono disturbi gastrici e astenia, mentre linfopenia e emielosoppressione sono più rari. (57)

1.3.6.2 Adiuvanti di seconda linea

1.3.6.2.1 immunoglobuline per via endovenosa (IVIG)

Immunoglobuline per via endovenosa (IVIG) a dosi da 400 mg a 2g/kg somministrate in 2-5 giorni consecutivi si utilizzano soprattutto nelle forme di pemfigo resistente. L'intervallo tra le infusioni è di 4settimane, successivamente aumentato se la risposta è buona. Effettuare dosaggio IG sieriche prima dell'infusione

1.3.6.2.2 Ciclofosfamide

Ciclofosfamide è un agente alchilante che può essere somministrato a dosaggi compresi tra 1 e 3 mg/kg per os o in boli di 500 mg e.v. Il trattamento funziona tra quattro e dieci settimane. Provoca spesso effetti potenzialmente gravi come leucopenia, cistite emorragica, azoospermia, insufficienza ovarica e aumento del rischio di neoplasia vescicale.

1.3.6.2.3 Dapsone

Il dapsone, che è un solfone orale cp da 25 mg e da 100 mg, viene somministrato per via orale al dosaggio iniziale di 50 mg in due dosi, che viene successivamente aumentato gradualmente, se tollerato, fino a un dosaggio giornaliero di 200 mg. Prima e dopo il trattamento sono necessarie valutazioni di emocromo, G6PDH e metaemoglobinemia perché possono causare emolisi e metaemoglobinemia che dipendono dalla dose.

1.3.6.2.4 Methotrexate

Utilizzato in dosi basse, l'antagonista dell'acido folico è il methotrexate (7,5-15 mg/settimana). Il suo uso nel pemfigo è stato sconsigliato da una ricerca del 1996, ma la British Association of Dermatologists dice che alcuni lo fanno ancora.

1.3.6.2.5 Immunoaferesi

Nel pemfigo acuto, l'immunoaferesi è consigliata. Il protocollo prevede una fase di induzione che consiste in tre o quattro trattamenti consecutivi con immunoassorbenti ad alta affinità per le IgG. Quindi segue una fase di mantenimento che dipende dall'attività della malattia. Ad esempio, potrebbe essere un trattamento settimanale o quattro trattamenti consecutivi ogni quattro settimane.

1.3.6.2.6 Rituximab

Rituximab, che è un anticorpo monoclonale anti-CD20, viene somministrato una volta alla settimana per quattro settimane in dosaggio di 375 mg/m² in infusione lenta (4-6 ore) endovenosa. La somministrazione deve avvenire a tempo 0 e al 15 giorno secondo un altro protocollo terapeutico. In caso di malattia resistente alle altre terapie sistemiche, viene utilizzato in modo compassionevole. Si può riassumere una dose ogni volta che si verifica una recidiva. Gli esami di screening di laboratorio includono

sottopopolazioni linfocitarie, immunoglobuline sieriche, glicemia, valori pressori, creatinina e azotemia, profilo proteico di albumina e albumina, GOT, GPT, GGT e emocromo.

1.3.6.3 Trattamenti Aggiuntivi

I corticosteroidi topici potenti (clobetasolo propionato) e gli antisettici (clorexidina) sono usati per le lesioni erosive del cavo orale. In caso di terapia corticosteroidica prolungata, sono necessari l'apporto di calcio, vitamina D e inibitori di pompa protonica o anti H2 per prevenire ulcere gastro-duodenali.

1.4 Rituximab

1.4.1 *Terapia con Anticorpi monoclonali (mAbs)*

I mAbs hanno cambiato la medicina per molte malattie autoimmuni, tra cui il pemfigo. I mAb funzionano in modo specifico legando e modulando le parti essenziali del sistema immunitario che sono coinvolte nella patogenesi della malattia. Questo li distingue dagli agenti immunosoppressori tradizionali [59] I mAb sono sviluppati in laboratorio per identificare e legarsi a particolari cellule, recettori o antigeni. Sono progettati per funzionare attraverso una varietà di meccanismi d'azione, come il blocco della funzione di un recettore specifico, l'induzione di citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) o il targeting diretto e l'impoverimento di particolari popolazioni cellulari.[60].

1.4.2 *Meccanismo d'azione di rituximab*

Rituximab, un mAb chimerico, è emerso come un'alternativa promettente per la cura del pemfigo. È in particolare in grado di influenzare le cellule B CD20-positive, il che porta alla loro deplezione e, di conseguenza, alla regolazione della risposta immunitaria. Una proteina di superficie chiamata CD20 viene espressa nelle cellule pre-B, nelle cellule B mature e in alcune cellule B maligne . [61] Rituximab induce l'ADCC, la citotossicità mediata dal complemento e l'apoptosi quando è associato al CD20. Ciò provoca la perdita di cellule B CD20-positive. La produzione di autoanticorpi patogeni, inclusi gli autoanticorpi contro il pemfigo, viene interrotta a causa di questa deplezione. Gli autoanticorpi contro il pemfigo sono essenziali per la patogenesi del PV. [62]

È stato dimostrato che rituximab ha anche effetti immunomodulatori aggiuntivi. Può alterare l'equilibrio dei sottoinsiemi di cellule T, ridurre la produzione di citochine proinfiammatorie e controllare la funzione delle cellule T regolatorie, che aiuta a ripristinare la tolleranza immunitaria e controllare le risposte autoimmuni del PV. La terapia con rituximab è un'opzione interessante per il trattamento del pemfigo a causa del suo effetto mirato sulle cellule B. Nelle sezioni successive, esamineremo la sicurezza e l'efficacia clinica di rituximab nel PV ed esploreremo in dettaglio i suoi meccanismi d'azione sottostanti .[63,64]

1.4.3 *Meccanismi d'azione ed effetti immunologici del rituximab*

I risultati terapeutici di rituximab nel PV si manifestano attraverso una serie di meccanismi diversi, ma la sua azione principale si concentra sulle cellule B CD20-positive. CD20 è una proteina che si esprime sulla superficie delle cellule pre-B, delle cellule B mature e di alcune cellule B maligne. Rituximab si lega al CD20 e media la deplezione delle cellule B in diversi modi. Le cellule effettrici immunitarie, come le cellule natural killer (NK), riconoscono le cellule B legate a rituximab e le distruggono attraverso l'azione di ADCC. L'esaurimento delle cellule B circolanti e la diminuzione della produzione di autoanticorpi patogeni sono tutti risultati di questo processo. La citotossicità complemento-dipendente (CDC) può essere causata da rituximab attivando la via classica del complemento. La lisi delle cellule B bersaglio avviene quando rituximab si lega al CD20.

1.4.4 Effetti terapeutici del rituximab nel PV

Gli effetti terapeutici del rituximab nel PV non sono attribuiti esclusivamente alla deplezione delle cellule B. Ulteriori effetti immunologici contribuiscono alla sua efficacia nel modulare la risposta immunitaria e nel migliorare l'attività della malattia.

1.4.4.1 Riduzione degli autoanticorpi patogeni

Rituximab agisce in particolare sulle cellule B che sono responsabili della produzione di autoanticorpi contro le proteine desmogleina presenti nel PV. Rituximab riduce la produzione di autoanticorpi patogeni eliminando queste cellule B, attenuando la risposta immunitaria diretta contro le desmogleine. Questa diminuzione degli autoanticorpi patogeni migliora l'attività della malattia e la guarigione delle lesioni vescicolari. [65]

1.4.4.2 Modulazione delle risposte delle cellule T

I profili di citochine e i sottogruppi di cellule T sono stati alterati dal trattamento con rituximab. È in grado di ridurre il numero di cellule T helper CD4+, che sono essenziali per controllare la risposta immunitaria nel PV. La risposta infiammatoria e la produzione di autoanticorpi diminuiscono quando la quantità di cellule T helper CD4+ diminuisce. Rituximab può anche stimolare l'espansione delle cellule T regolatorie, chiamate Reg. Queste cellule possono aiutare a ripristinare la tolleranza immunitaria e regolare le risposte autoimmuni. Le Treg regolano l'attività di altre cellule immunitarie, contribuendo alla soppressione dell'autoimmunità. [66,67]

1.4.4.3 Interazioni compromesse tra cellule B e cellule T

Le cellule B possono presentare antigeni e autoantigeni alle cellule T, innescando la risposta immunitaria. La deplezione delle cellule B causata dal rituximab interrompe queste interazioni tra cellule B e cellule T.

Ciò fa diminuire l'attivazione delle cellule T e riduce la risposta immunitaria. La produzione di autoanticorpi viene soppressa ulteriormente a causa di questa interruzione delle interazioni tra cellule B e cellule T. Inoltre, la risposta immunitaria contro le proteine desmogleina si attenua.[68]

1.4.4.4 Effetti antinfiammatori

Rituximab riduce la produzione di citochine proinfiammatorie. Ciò include il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa) e l'interleuchina-6 (IL-6). Queste citochine guidano l'infiammazione del PV. La produzione di IL-6 e TNF-alfa viene inibita da Rituximab, che migliora l'attività della malattia e l'infiammazione nel PV. Questo effetto antinfiammatorio migliora la guarigione [69] e riduce la gravità delle lesioni vesciche . Gli effetti immunologici del rituximab nel PV e i suoi numerosi meccanismi d'azione sono fondamentali per ottimizzare le strategie di trattamento e prevedere le risposte al trattamento. Queste procedure forniscono informazioni su possibili bersagli per futuri trattamenti per la gestione del PV.

1.4.5 *Analisi comparativa: rituximab rispetto ad altre modalità di trattamento*

Rituximab è stato valutato in confronto con gli agenti immunosoppressori tradizionali utilizzati nel trattamento del PV. L'obiettivo è esaminare l'efficacia relativa, i profili di sicurezza e i risultati a lungo termine di rituximab rispetto ai metodi tradizionali, come i corticosteroidi e altri agenti che sopprimono l'immunità. Il centro del trattamento per il PV sono i corticosteroidi, come il prednisone. Sebbene forniscano un rapido controllo della malattia, comportano una serie di problemi e effetti collaterali a lungo termine. Si è dimostrato che il rituximab è efficace nel raggiungere la remissione della malattia nei pazienti resistenti ai corticosteroidi, rendendo possibile una riduzione della dose di steroidi o addirittura la sospensione completa della terapia. [70]

Gli agenti risparmiatori di steroidi nel PV sono spesso gli agenti immunosoppressori convenzionali come l'azatioprina e il micofenolato mofetile (MMF). Questi farmaci hanno effetti collaterali come mielosoppressione ed epatotossicità e richiedono un uso a lungo termine sebbene possano controllare efficacemente l'attività della malattia. Il rituximab, invece, offre un'alternativa con un meccanismo d'azione mirato e una tossicità potenzialmente inferiore a lungo termine.

1.4.6 *Indicazioni e dosaggio del rituximab*

RTX è attualmente approvato dalla FDA come trattamento per la leucemia linfatica cronica, l'artrite reumatoide, la granulomatosi con poliangerite, la poliangerite microscopica e il pemfigo volgare (PV). Inoltre, è stato utilizzato senza licenza per altre condizioni immunomediate, come disturbi neurologici,

ematologici, dermatologici, oncologici e autoimmuni. Ha anche una designazione orfana per l'encefalite di Rasmussen e la porpora trombocitopenica immune.[71] Nel 2018, la FDA ha approvato RTX come immunosoppressore per il trattamento del PV negli adulti con malattia moderata-severa al fine di ridurre l'uso di steroidi insieme ai corticosteroidi. Tuttavia, c'è ancora incertezza sul regime RTX ideale da utilizzare nel PV.

I pazienti erano stati trattati inizialmente con il protocollo del linfoma, che prevedeva 4 infusioni settimanali di 375 mg/m² di RTX.[72,73]

Le linee guida europee e americane consigliano attualmente due infusioni di 1000 mg di RTX a intervalli di due settimane, accompagnate da un corso di riduzione graduale dei glucocorticoidi. Le linee guida europee consigliano infusioni di 500 mg di RTX ai mesi 12 e 18, quindi ogni sei mesi in base alle condizioni cliniche dei pazienti. Le linee guida americane consigliano invece l'infusione di 500 mg di RTX ogni dodici mesi e poi ogni sei mesi successivamente, sempre in base alle condizioni cliniche del paziente.[74,75]

1.4.7 Regimi a basso dosaggio di rituximab

Il regime RTX più adatto al pemfigo volgare (PV) non è ancora stato determinato. Mancano studi per determinare la dose di RTX per il PV e altre condizioni non maligne, e i protocolli standard superano la dose efficace richiesta per indurre la deplezione delle cellule B. Questi risultati sono riassunti nella Tabella 1. Nelle malattie autoimmuni [76,77] e in particolare nel PV[78]7, le cellule plasmatiche a breve vita responsabili della produzione di autoanticorpi patogeni sono costantemente rifornite, il carico delle cellule B è inferiore rispetto ai disturbi linfoproliferativi.

Di conseguenza, non esiste una correlazione lineare tra l'effetto terapeutico e la deplezione delle cellule B, e sono stati suggeriti studi clinici per esaminare la risposta a dosaggi più bassi di RTX nel PV. Una revisione pubblicata nel 2021 ha raccolto prove sull'utilizzo di RTX a basso dosaggio per il trattamento del PV: Sono stati inclusi nove studi che hanno utilizzato diversi dosaggi di RTX. I dosaggi variavano tra basso (2 × 375 mg/m² o 2 × 500 mg), dose modificata (3 × 375 mg/m² o 3 × 500 mg) e ultra-basso (≤500 mg per ciclo, sia singolo che multiplo).[79,80]

Queste informazioni confermano i risultati di una revisione sistematica e meta-analisi del 2015 che ha confrontato vari regimi RTX nel trattamento del PV. Gli autori hanno scoperto che i protocolli ad alto dosaggio (vicino o oltre 2000 mg/ciclo) erano migliori rispetto a quelli a basso dosaggio (meno di 1500 mg/ciclo) in termini di remissione completa, tempo necessario per controllare la malattia e remissione completa, nonché tassi di recidiva. Il regime di RTX ad alto dosaggio è stato associato a una durata di remissione completa più lunga. Specificamente, uno studio su 27 soggetti ha evidenziato un tempo ridotto

per la remissione completa e un tasso di recidiva associati a RTX ad alto dosaggio, mentre uno studio su 22 soggetti con PV non ha riportato differenze nella remissione completa e nel tempo per il controllo della malattia. [81]

Tabella 1 : effetto di incremento di dose di rituximab sulle cellule B .

Dose of Rituximab	Decrease of B Cells	Time to Reconstitution of B Cells
0.1 mg/m ²	68%	4 weeks
0.3 mg/m ²	74%	4 weeks
1 mg/m ²	97%	9 months

Una ricerca aggiuntiva su 23 pazienti ha mostrato risultati clinici simili tra dosi elevate e basse nel PV grave[82]. Infine, il nostro gruppo di ricerca ha condotto uno studio pilota in cui otto pazienti con PV (diagnosticati in base alla presentazione clinica suggestiva e alla istologia, confermati da immunofluorescenza diretta positiva) hanno ricevuto una singola infusione di 200 mg di RTX: 5 soggetti hanno ricevuto la remissione completa e 3 hanno dato una risposta parziale. Solo un paziente era rimasto senza terapia corticosteroidica alla fine del periodo di follow-up e un altro paziente aveva avuto una recidiva.[83]

Per fornire prove solide a sostegno dell'efficacia di RTX a basso e ultra-basso dosaggio nel PV, attualmente mancano studi di alta qualità randomizzati e controllati e studi prospettici su larga scala. L'uso contemporaneo di steroidi sistemici e la gravità del PV sono fattori confondenti prevedibili che dovrebbero essere presi in considerazione nelle future indagini. I protocolli RTX a basso dosaggio sono stati anche utilizzati con successo per una varietà di indicazioni off-label[84]. Tuttavia, sono necessari studi aggiuntivi per determinare il regime RTX ideale per le malattie immunoblastose come il PV.

2 SCOPO DELLO STUDIO

2.1 Obiettivo dello Studio

Questo studio mira principalmente a valutare l'efficacia terapeutica di rituximab a dosaggi ultra-bassi in pazienti affetti da pemfigo volgare, una malattia autoimmune bollosa che causa bolle e lesioni dolorose sulla pelle e sulle mucose. Per raggiungere questo obiettivo, è stata effettuata una raccolta sistematica e un'analisi approfondita dei dati clinici dei pazienti trattati dal 2018 al presente. Questi dati sono stati recuperati dalle cartelle cliniche cartacee ed elettroniche. Numerosi parametri clinici sono utilizzati per valutare la risposta terapeutica, come il miglioramento delle lesioni cutanee, la riduzione delle recidive, il tempo necessario per vedere i primi segni di miglioramento e il tempo totale per la remissione della malattia. Questo approccio permette di ottenere una panoramica completa sull'efficacia del trattamento a dosaggi ridotti di rituximab, fornendo dati cruciali per il perfezionamento delle strategie terapeutiche.

2.2 Obiettivo Secondario

L'obiettivo secondario dello studio è valutare la tollerabilità del dosaggio ultra-basso di rituximab nei pazienti con pemfigo volgare. La tollerabilità è un aspetto fondamentale nella gestione della terapia, poiché anche un trattamento efficace può essere limitato dagli effetti collaterali che ne derivano. Per questo motivo, sono stati attentamente raccolti e analizzati tutti gli eventi avversi riportati dai pazienti in seguito alla somministrazione di rituximab. Gli eventi avversi sono stati documentati in dettaglio, includendo la natura, la gravità e la frequenza degli stessi, nonché il loro impatto sullo stato generale di salute dei pazienti. Questa analisi permette di comprendere meglio il profilo di sicurezza del rituximab a dosaggi ultra-bassi, aiutando a identificare potenziali rischi e a migliorare la gestione delle reazioni avverse durante il trattamento.

3 MATERIALI E METODI

3.1 Disegno dello studio e popolazione oggetto di studio

È stato condotto uno studio osservazionale con disegno retrospettivo utilizzando i dati contenuti nelle cartelle cliniche cartacee relative ai ricoveri presso il Day Hospital della Clinica Dermatologica e nell'applicazione E-Health Galileo (Dedalus Italia S.p.A., Firenze, Italia), che raccoglie le cartelle cliniche elettroniche del nostro ospedale. La piattaforma Galileo registra i dati sociodemografici, le diagnosi e i referti generati durante le visite ambulatoriali.

Lo studio ha coinvolto un campione di 10 soggetti con diagnosi di pemfigo volgare che hanno ricevuto con successo trattamento con rituximab dal 2018 al presente. Il farmaco è stato prescritto, secondo l'indicazione autorizzata per patologia da moderata a severa, somministrando una singola dose ultra-low pari a 200 mg secondo le evidenze della letteratura, eventualmente ripetibile in caso di recidiva di malattia. Tutti i pazienti coinvolti nello studio hanno ricevuto anche corticosteroidi orali al dosaggio usuale fino a prednisone 2 mg/kg/die.

I seguenti dati demografici e clinici sono stati raccolti: sesso, età, caratteristiche del pemfigo (età alla diagnosi, distribuzione topografica a cute e mucose, precedenti trattamenti, anticorpi anti-Dsg1 e anti-Dsg3) e terapia con rituximab per la prima infusione e per eventuali recidive (data di somministrazione, dose, eventi avversi, tipo di risposta – completa o parziale –, tempo per miglioramento, tempo per remissione, durata di remissione, data di recidiva, terapie alla recidiva).

3.2 Considerazioni etiche

L'approvazione etica non è stata richiesta per questo studio, in considerazione della natura retrospettiva di questo studio osservazionale su registro. Le cartelle cliniche cartacee ed elettroniche sono state utilizzate in accordo alla legislazione sulla protezione dei dati e sulla privacy dei pazienti, per cui era disponibile consenso informato specifico. Infine, lo studio è stato condotto secondo i principi di buona pratica clinica.

3.3 Analisi statistica

È stata eseguita un'analisi descrittiva: per le variabili quantitative sono state impiegate mediana e range [minimo; massimo]; per le variabili qualitative frequenze assolute e relative (percentuali). Le analisi statistiche sono state effettuate con Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

4 RISULTATI

I dati demografici e clinici del campione di 10 pazienti sono riassunti in tabella 2.

Tabella 2. Dati demografici e clinici di 10 pazienti affetti da pemfigo.

Caratteristica	Valore
Sesso	
F [n (%)]	F : 3 (30 %)
M [n (%)]	M : 7 (70 %)
Età alla diagnosi di pemfigo [mediana (min;max) anni]	[54,5(20,68) anni]
Autoanticorpi	
Dsg1 [mediana (min;max)]	Dsg1 : [75,2 (0,205,55)]
Dsg3 [mediana (min;max)]	Dsg3 :[116,4(46,3,198,1)]
Distribuzione	
Mucose [n (%)]	Mucose [10(100 %)]
Cute [n (%)]	Cute [8(80%)]
Terapie pregresse	
Corticosteroidi [n (%)]	Corticosteroidi [10 (100) %]
Metotrexate [n (%)]	Mthx [0(0 %)]
Azatioprina [n (%)]	Azatioprina [8(80 %)]
Dapsone [n (%)]	Dapsone[2(20 %)]
Età alla prima infusione di rituximab [mediana (min;max) anni]	[56(21,69)]

La maggioranza dei pazienti con pemfigo (70%) sono maschi, con un'età alla diagnosi mediana di 54,5 anni, sebbene l'intervallo possa estendersi fino ai 68 anni. La mediana degli autoanticorpi Dsg1 è 75,2, mentre i livelli di Dsg3 sono significativi con una mediana di 116,4, suggerendo un ruolo importante degli autoanticorpi contro Dsg3. Il coinvolgimento delle mucose è prevalente (90%) rispetto alle lesioni cutanee (70%). Tutti i pazienti sono stati trattati con corticosteroidi, l'80% ha ricevuto azatioprina, mentre il metotrexate non è stato utilizzato in prima linea e il 20% ha utilizzato dapsone. L'età alla prima infusione di rituximab copre un ampio intervallo, con una mediana che coincide con l'età alla diagnosi, indicando che i pazienti iniziano il trattamento con rituximab poco dopo la diagnosi. Questi dati offrono una panoramica sulle caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con pemfigo e le terapie utilizzate prima dell'introduzione del rituximab

I dati terapeutici relativi alla prima somministrazione del trattamento con rituximab sono riassunti nella Tabella 3.

Tabella 3. Risposta e tollerabilità del trattamento con rituximab (prima infusione).

Caratteristica	Valore
Dosaggio	
200 mg [n (%)]	200 mg [8(80 %)]
100 mg [n (%)]	100 mg [2 (20 %)]
Tipo di risposta	
Completa (CR) [n (%)]	CR [7(70%)]
Parziale (PR) [n (%)]	PR [3(30%)]
Non responder (NR) [n (%)]	NR 0

Eventi avversi [n (%)]	[2 (20 %)]
Tempo per miglioramento [mediana (min;max) mesi]	[2,5(1; 3 mesi)]
Tempo per remissione [mediana (min;max) mesi]	[5,5(3; 9 mesi)]
Durata della remissione [mediana (min;max) mesi]	[3(1; 7 mesi)]

La maggior parte dei pazienti (80%) ha ricevuto un dosaggio di 200 mg di rituximab, mentre il restante 20% ha ricevuto un dosaggio di 100 mg. Il 70% dei pazienti ha ottenuto una risposta completa (CR) al trattamento, mostrando una remissione totale dei sintomi, mentre il 30% ha mostrato una risposta parziale (PR), con una riduzione significativa ma non completa dei sintomi. Nessun paziente è stato classificato come non responder (NR), indicando che tutti i pazienti hanno risposto in qualche misura al trattamento. Gli eventi avversi sono stati segnalati nel 20% dei pazienti, suggerendo che il trattamento è stato generalmente ben tollerato, sebbene alcuni pazienti abbiano sperimentato effetti collaterali.

Il tempo mediano per osservare un miglioramento dei sintomi è stato di 2,5 mesi, con un range che va da un minimo di 1 mese a un massimo di 3 mesi, indicando che la maggior parte dei pazienti ha iniziato a vedere benefici del trattamento entro il primo trimestre. Il tempo mediano per raggiungere una remissione completa è stato di 5,5 mesi, con un range che va da 3 a 9 mesi, suggerendo che alcuni pazienti hanno raggiunto la remissione molto rapidamente, mentre altri hanno impiegato più tempo.

La durata mediana della remissione è stata di 3 mesi, con un range che varia da 1 mese a 7 mesi, indicando che, sebbene la remissione sia stata raggiunta, la sua durata può variare considerevolmente tra i pazienti. In sintesi, il dosaggio di 200 mg di rituximab è stato il più comunemente utilizzato e ha portato a risposte terapeutiche positive nella maggior parte dei pazienti, con tempi relativamente rapidi per miglioramento e remissione. Tuttavia, c'è una variabilità significativa nella durata della remissione e una parte dei pazienti ha sperimentato eventi avversi.

I dati terapeutici relativi alle successive somministrazioni del trattamento con rituximab sono stati aggregati nella Tabella 4.

Tabella 4. Risposta e tollerabilità del trattamento con rituximab (seconda infusione).

Caratteristica	Valore
Terapie alla recidiva	
Corticosteroidi [n (%)]	Corticosteroidi [7(100%)]
Metotrexate [n (%)]	Mtxt [1(14 %)]
Azatioprina [n (%)]	Azatioprina [1(14 %)]
Dapsone [n (%)]	Dapsone [3(43 %)]
Altro [n (%)]	Altro [2(28 %)]
Tempo tra recidiva e somministrazione di rituximab [mediana (min;max) mesi]	[5(2, 8 mesi)]
Dosaggio	
200 mg [n (%)]	200 mg [5(71 %)]
20 mg [n (%)]	20 mg [1(14 %)]

Tipo di risposta	
Completa (CR) [n (%)]	Completa [1(14 %)]
Parziale (PR) [n (%)]	Parziale [5(71 %)]
Non responder (NR) [n (%)]	
Eventi avversi [n (%)]	[0(0%)]
Tempo per miglioramento [mediana (min;max) mesi]	[2(2,3 mesi)]
Durata di remissione [mediana (min;max) mesi]	[9(7,22 mesi)]

la tabella 5 mostra le Analisi comparativa dei trattamenti iniziali e delle recidive con rituximab nel pemfigo.

Caratteristica	Prima infusione	Seconda infusione
Terapie alla recidiva		
Corticosteroidi [n (%)]	Corticosteroidi [10 (100) %]	Corticosteroidi [7(100%)]
Metotrexate [n (%)]	Mthx [0(0 %)]	Mtxt [1(14 %)]
Azatioprina [n (%)]	Azatioprina [8(80 %)]	Azatioprina [1(14 %)]
Dapsone [n (%)]	Dapsone[2(20 %)]	Dapsone [3(43 %)]
Altro [n (%)]		Altro [2(28 %)]
Tempo tra recidiva e somministrazione di rituximab [mediana (min;max) mesi]		
Dosaggio		
200 mg [n (%)]	200 mg [8(80 %)]	200 mg [5(71 %)]
20 mg [n (%)]	20 mg 0	20 mg [1(14 %)]
100 mg [n(%)]	100 mg [2 (20 %)]	100 mg 0
Tipo di risposta		
Completa (CR) [n (%)]	CR [7(70%)]	CR [1(14 %)]
Parziale (PR) [n (%)]	PR [3(30%)]	PR [5(71 %)]
Non responder (NR) [n (%)]	NR 0	NR 0
Eventi avversi [n (%)]	[2 (20 %)]	0
Tempo per miglioramento [mediana (min;max) mesi]	[2,5(1; 3 mesi)]	[2(2,3 mesi)]
Durata di remissione [mediana (min;max) mesi]	[3(1; 7 mesi)]	[9(7,22 mesi)]

La tabella 5 mostra :

Per il dosaggio : nel trattamento iniziale, l'80% dei pazienti ha ricevuto 200 mg di rituximab, mentre solo il 20% ha ricevuto 100 mg. Per le recidive, la maggior parte (71%, 5 su 6) ha ricevuto 200 mg, mentre solo un paziente ha ricevuto 20 mg. Questo paziente era l'unico ad avere una risposta parziale dopo un'infusione di 100 mg di rituximab.

Tipo di Risposta: La risposta completa (CR) è stata significativamente più alta nel trattamento iniziale (70%) rispetto alle recidive (14%), suggerendo una maggiore efficacia del trattamento iniziale. Le risposte parziali (PR) sono state più comuni nelle recidive (71%) rispetto al trattamento iniziale (30%), indicando che le recidive potrebbero essere più difficili da trattare efficacemente con rituximab.

Eventi Avversi: Gli eventi avversi sono stati segnalati nel 20% dei pazienti durante il trattamento iniziale, mentre nessun evento avverso è stato riportato durante le terapie alla recidiva, suggerendo una possibile tolleranza migliorata o un cambiamento nella gestione del trattamento.

Tempo per Miglioramento e Remissione: Il tempo per osservare un miglioramento è stato più rapido nel trattamento iniziale (1,3 mesi) rispetto alle recidive (2 mesi). Tuttavia, il tempo mediano per raggiungere la remissione è stato lo stesso per entrambi i trattamenti (9 mesi), anche se con una maggiore variabilità per le recidive (7-22 mesi rispetto a 0-9 mesi nel trattamento iniziale).

Durata della Remissione: La durata mediana della remissione dopo il trattamento iniziale è stata di 3 mesi, mentre la durata della remissione per le recidive è stata mediana di 5,5 mesi, con un range da 7 a 22 mesi. Questo indica che, sebbene il trattamento iniziale possa portare a una remissione più breve, la remissione dopo il trattamento delle recidive tende a durare più a lungo.

Terapie alla Recidiva: Tutti i pazienti in recidiva hanno ricevuto corticosteroidi (100%), con una parte che ha utilizzato anche metotrexate (14%), azatioprina (14%), dapsone (43%) e altre terapie (28%). Questo riflette un approccio multimodale nella gestione delle recidive, evidenziando la necessità di combinare diverse terapie per gestire efficacemente la malattia.

I dati terapeutici relativi alle successive somministrazioni del trattamento con rituximab a 4 pazienti con seconda recidiva di pemfigo sono stati aggregati nella Tabella 5 :

Tabella 6. Trattamento con rituximab (terza infusione e successive)

Terapie alla recidiva	Corticosteroidi [3(75%)]
Corticosteroidi [n (%)]	Mtxt [1(25%)]
Metotrexate [n (%)]	Azatioprina [1(25%)]
Azatioprina [n (%)]	Dapsone [1(25%)]
Dapsone [n (%)]	Altro [1(25%)]
Altro [n (%)]	
Tempo tra recidiva e somministrazione di rituximab [mediana (min;max) mesi]	[4 (2,15)]
Dosaggio	200 mg [2(50 %)]
200 mg [n (%)]	20 mg [0(0 %)]
20 mg [n (%)]	
Tipo di risposta	
Completa (CR) [n (%)]	Completa [1(50 %)]
Parziale (PR) [n (%)]	Parziale [1(50 %)]
Non responder (NR) [n (%)]	
Eventi avversi [n (%)]	[0(0%)]
Tempo per miglioramento [mediana (min;max) mesi]	[2(2,3 mesi)]
Tempo di remissione [mediana (min;max) mesi]	[7(5,9 mesi)]

L'analisi dei due pazienti con seconda recidiva di pemfigo volgare, trattati nuovamente con rituximab, evidenzia un approccio multimodale con il 75% dei pazienti che ha ricevuto corticosteroidi e il 25% che ha ricevuto metotrexate, azatioprina, dapsone o altre terapie. Il tempo mediano tra la recidiva e la somministrazione di rituximab è stato di 4 mesi (range 2-15 mesi). Entrambi i pazienti hanno ricevuto una dose di 200 mg di rituximab e hanno mostrato risposte equamente divise tra completa (1/2) e parziale (1/2), senza eventi avversi segnalati. Il tempo mediano per il miglioramento clinico è stato di 2 mesi (range 2-3 mesi), mentre il tempo di remissione è stato di 7 mesi (range 5-9 mesi), suggerendo che l'efficacia del rituximab nel migliorare i sintomi rimane costante anche dopo trattamenti ripetuti, sebbene i periodi di remissione possano diventare più brevi con le recidive successive.

5 DISCUSSIONE

Il rituximab, un anticorpo monoclonale diretto contro l'antigene CD20 dei linfociti B, agisce attraverso una varietà di meccanismi, tra cui l'induzione diretta della morte cellulare programmata, la citotossicità mediata dalle cellule dipendenti dagli anticorpi (ADCC), la citotossicità dipendente dal complemento (CDC) e la fagocitosi dipendente dagli anticorpi. Inoltre, è stato dimostrato che il rituximab riduce indirettamente le cellule T helper CD4+ autoreattive attraverso la privazione dei segnali di presentazione dell'antigene delle cellule B [85, 86, 87].

Depletando le cellule B, il rituximab riduce gli autoanticorpi anti-desmoglein circolanti, ma questo non è l'unico meccanismo d'azione del rituximab nel pemfigo. È stato dimostrato che il rituximab determina un'immunomodulazione sia della funzione immunitaria umorale che acquisita nel pemfigo, spiegando il fatto che la remissione clinica può durare più a lungo rispetto alla ripopolazione delle cellule B nel sangue periferico dei pazienti[85]. I pazienti che raggiungono la remissione a lungo termine dopo l'infusione di rituximab sono stati segnalati avere un aumento del rapporto tra cellule B naive/memory, un aumento delle cellule B regolatorie e delle cellule T regolatorie che inibiscono le cellule B memory specifiche per desmogleina 3[85]. D'altra parte, i pazienti con ricadute precoci dopo la ripopolazione delle cellule B hanno un rapporto diminuito tra cellule B naive/memory, determinando la ricomparsa di cellule T specifiche per desmogleina 3 auto-reattive che attivano le cellule B autoreattive causando la produzione di autoanticorpi anti-desmoglein.[85].

I pazienti affetti da pemfigo sono stati inizialmente trattati con rituximab secondo il protocollo per il linfoma non Hodgkin, che prevedeva una dose di 375 mg/m² ogni settimana per quattro settimane.[88,89] Tuttavia, è stata esaminata la possibilità di utilizzare una dose inferiore di rituximab poiché il carico delle cellule B nelle malattie bullose autoimmuni è molto inferiore rispetto ai linfomi. Il protocollo per l'artrite reumatoide, che consisteva in due infusioni di 1000 mg somministrate a distanza di due settimane, è stato utilizzato con successo nei pazienti affetti da pemfigo volgare[90,91]. Il trattamento del pemfigo è stato anche condotto con un dosaggio basso di rituximab (500 mg a intervalli di due settimane).[92,93]

Nel presente studio abbiamo scelto di studiare un dosaggio ultra-basso perché i risultati di un'indagine hanno dimostrato che una singola dose minima di rituximab (meno di 1 mg/m²) depleta efficacemente le cellule B CD20 nei volontari sani[94]. Questi risultati suggeriscono che un dosaggio ultra-basso di rituximab può essere utilizzato nelle malattie autoimmuni dipendenti dagli anticorpi come il pemfigo volgare. In particolare, il modello farmacocinetico studiato ha dimostrato che due infusioni di rituximab da 100 mg, la dose più bassa disponibile, possono sopprimere completamente le cellule CD20+ per un periodo di tre mesi.[95]

I dati della nostra serie di casi aperta non randomizzata suggeriscono che un dosaggio ultra-basso di rituximab potrebbe essere un trattamento efficace per i pazienti affetti da pemfigo volgare. Tutti i pazienti hanno mostrato un miglioramento clinico e 7 su 10 pazienti (70%) hanno raggiunto la remissione completa. Poiché tutti i pazienti sono stati trattati nella fase di mantenimento con prednisone orale a basso dosaggio, che è stato rapidamente ridotto fino a raggiungere un dosaggio di 0,1 mg/kg/die, la significativa riduzione del PDAI può essere attribuita esclusivamente al rituximab. Tuttavia, il tasso di remissione completa (70 %) sembra essere leggermente inferiore rispetto all'uso di un regime di dosaggio più elevato di rituximab (76%) [95]. Solo un paziente ha avuto una risposta incompleta (10 %) e si è aggravato nuovamente dopo 58 settimane, in cui era stato trattato con prednisone (a partire da 1,5 mg/kg e gradualmente ridotto a 0,5 mg/kg) e metotrexato 7,5 mg settimanali con remissione parziale della malattia. Non è possibile effettuare un confronto diretto dei nostri risultati con studi precedenti a causa dell'eterogeneità nei protocolli di trattamento, nella durata del follow-up e nelle definizioni. Inoltre, il ruolo dei trattamenti immunosoppressivi concomitanti con rituximab non è stato chiaramente definito ed è necessario comprendere meglio il loro ruolo nel prolungare la remissione. Tuttavia, la recidiva dopo l'infusione di rituximab è stata frequentemente riportata [80]. Studi precedenti hanno riportato un tasso di recidiva del 27-48% da 6 mesi a diversi anni dopo la prima infusione di rituximab [91,96-97].

La risposta al rituximab (RTX) a dosi alte e basse è stata documentata in numerosi studi (tabella 2). I regimi contenenti RTX ottengono una probabilità tre volte maggiore di remissione completa rispetto alla terapia con soli steroidi(98,99). Tuttavia, i tassi di risposta non sono facilmente comparabili a causa della variabilità del dosaggio cumulativo di corticosteroidi. Mancano risultati standardizzati di risposta clinica, ma una differenza significativa nella qualità della vita, valutata attraverso i punteggi DLQI e Skindex, è stata riportata con RTX rispetto ai soli steroidi.(100,98).

Le differenze nelle caratteristiche dei pazienti e della malattia suggeriscono che la terapia dovrebbe essere personalizzata caso per caso (101). Il trattamento precoce con RTX, ovvero con una durata della malattia inferiore o uguale a 6 mesi, è associato a una remissione completa più alta e a un tempo più breve per la remissione e una durata di remissione più lunga. Tuttavia, la recidiva è comune nei pazienti con pemfigo volgare (PV) trattati con RTX, con frequenze fino all'81% dopo un follow-up di 79 mesi. La recidiva si verifica sia con regimi ad alte che basse dosi di RTX, anche se l'RTX ad alte dosi può ottenere una durata di remissione più lunga.(102)

Alcuni studi riportano remissione dopo un singolo ciclo di RTX (103,104,105), mentre altri suggeriscono dosi ripetute per consolidare la remissione. Il timing delle dosi aggiuntive di RTX è incerto e può essere influenzato dall'uso concomitante di immunosoppressori (104,106). L'osservazione di recidive anche dopo alte dosi di RTX suggerisce che cloni di cellule B della memoria persistenti potrebbero non essere suscettibili all'azione del farmaco.

Diversi regimi di RTX potrebbero essere preferiti in base alla gravità della malattia; tuttavia, definizioni incoerenti di gravità e risposta rendono impossibili i confronti diretti e richiedono ulteriori indagini. L'RTX precoce potrebbe essere il trattamento appropriato per pazienti con PV moderato-severo, mostrando una migliore risposta e tollerabilità rispetto alle terapie adiuvanti convenzionali(102,107,108). Infine, le preoccupazioni sulla sicurezza di RTX, a causa dei potenziali effetti avversi gravi, potrebbero limitarne l'uso nella pratica clinica e l'accettazione da parte dei pazienti.

Tabella 7. Schemi di dosaggio ridotti di rituximab nel pemfigo volgare

Regimen and Dosage of Rituximab	Evidence	Complete Response (%); Time to Control	Relapse (%); Time to Relapse
1 × 200 mg (ultra-low dose) ⁴⁰	CS	62.5%; 7.5 weeks	12.5%; 58 weeks
2 × 500 mg at a 2-week interval ^{33,34,37-39}	CS, RCT, RS	35-100%; 12-51 weeks	4-40%; 12-97 weeks
2 × 375 mg at a 1-week interval ^{32,35}	RS	42-69.2% 15.2-61.9 weeks	23.1-67%; 46-49.2 weeks
≥3 × 375 mg at 1-week interval ^{32,35}	RS	60-73% 18.2-21.3 weeks	0-50%; 61.6 weeks

6 CONCLUSIONE

Per determinare l'efficacia e la sicurezza di un trattamento di prima linea con ultra-bassa dose di RTX, sono necessari ulteriori studi clinici con un rigoroso design. Sono necessari anche studi in vitro per scoprire i meccanismi cellulari che contribuiscono alla remissione a lungo termine nei pazienti con PV. Il rischio di ricaduta è la principale limitazione dei trattamenti mirati alle cellule B attualmente, ma una comprensione approfondita di questi meccanismi potrebbe consentirci di superarla. Grazie alla sua evidente patogenicità degli autoanticorpi sierici prodotti da determinati cloni di cellule B, il PV è un disordine prototipico dell'autoimmunità. Di conseguenza, i risultati della ricerca su questa malattia potrebbero essere altrettanto applicabili a altre malattie autoimmuni che si verificano sulla pelle o in altri organi più ambigui.

L'idea che il carico delle cellule B nel PV sia notevolmente inferiore rispetto a quello nei disordini linfoproliferativi fornisce una giustificazione teorica per l'uso di una dose di RTX ultra-bassa. Inoltre, le reazioni avverse immediate e ritardate al RTX sono una preoccupazione significativa sia dal punto di vista del medico che del paziente: mentre le prime vengono gestite o prevenute interrompendo l'infusione, il che significa che vengono somministrate a una dose bassa, le seconde potrebbero anche trarre vantaggio da una dose cumulativa inferiore di RTX. La dose ultra-bassa di RTX è tollerabile e ha mostrato una risposta positiva al PV rispetto alle dosi elevate, soprattutto nelle fasi iniziali della malattia.

Finalmente, il costo elevato del farmaco biologico RTX costituisce una significativa limitazione alla fattibilità clinica del regime a pieno dosaggio di questo farmaco: Ciò può essere evitato utilizzando protocolli a dose ultra-bassa che riducono la ricaduta e possono essere somministrati di nuovo in caso di ricaduta.

7 BIBLIOGRAFIA

1. . Kasperkiewicz M, Ellebrecht CT, Takahashi H, Yamagami J, Zillikens D, Payne AS, Amagai M. Pemphigus. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 11;3:17026
2. . Maity S, Banerjee I, Sinha R, Jha H, Ghosh P, Mustafi S. Nikolsky's sign: A pathognomic boon. *J Family Med Prim Care*. 2020 Feb 28;9(2):526-530
3. ABERER W. e coll. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, 16, 527.
4. AHMED W. e coll. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1982, 7,
5. Anastasiadis PZ, Reynolds AB. The p120 catenin family: complex roles in adhesion, signaling and cancer. *J Cell Sci*. aprile 2000;113 (Pt 8):1319–34.
6. Arbache ST, Nogueira TG, Delgado L, Miyamoto D, Aoki V. Immunofluorescence testing in the diagnosis of autoimmune blistering diseases:overview of 10-year experience. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2014 [citato 4 maggio 2023];89(6):885–9. Disponibile <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230656/>
7. Barnes PJ. Corticosteroids: the drugs to beat. *Eur J Pharmacol*. 8 marzo 2006;533(1–3):2–14.
8. BARTHELEMY H. e coll. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1988, 18, 1262.
9. Boross P, Leusen JH: Meccanismi d'azione degli anticorpi CD20 . *Am J Cancer Res*. 2012, 2:676-90.
10. Cargill T, Culver EL: Il ruolo delle cellule B e delle terapie con cellule B nelle malattie epatiche immuno-mediate . *Immunolo anteriore*. 2021, 12:661196. 10.3389/fimmu.2021.661196
11. Chams-Davatchi C, Esmaili N, Daneshpazhooh M, Valikhani M, Balighi K, Hallaji Z, Barzegari M, Akhyani M, Ghodsi SZ, Seirafi H, Nazemi M-JT, Mortazavi H, Mirshams-Shahshahani M. Randomized controlled open-label trial of four treatment regimens for pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. ottobre 2007;57(4):622–8.
12. Chams-Davatchi C, Esmaili N, Daneshpazhooh M, Valikhani M, Balighi K, Hallaji Z, et al. Randomized

- controlled open-label trial of four treatment regimens for pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. ottobre 2007;57(4):622–8.
13. Chams-Davatchi C, Mortazavizadeh A, Daneshpazhooh M, Davatchi F, Balighi K, Esmaili N, et al. Randomized double blind trial of prednisolone and azathioprine, vs. prednisolone and placebo, in the treatment of pemphigus vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. ottobre 2013;27(10):1285–92.
14. Chen DM, Oduyungbo A, Csinady E, Gearhart L, Lehane P, Cheu M, Maho-Vaillant M, ProstSquarcioni C, Hebert V, Houivet E, Calbo S, Caillot F, Golinski ML, Labeille B, Picard-Dahan C, Paul C, Richard MA, Bouaziz JD, Duvert-Lehembre S, Bernard P, Caux F, Alexandre M, Ingen- 39 Housz-Oro S, Vabres P, Delaporte E, Quereux G, Dupuy A, Debarbieux S, Avenel-Audran M, D'Incan M, Bedane C, Bénétou N, Jullien D, Dupin N, Misery L, Machet L, Beylot-Barry M, Dereure O, Sassolas B, Benichou J, Musette P, Joly P; French Study Group on Autoimmune Bullous Diseases. Rituximab is an effective treatment in patients with pemphigus vulgaris and demonstrates a steroid-sparing effect. *Br J Dermatol*. 2020 May;182(5):1111-1119
15. Cirillo N, Prime SS. Desmosomal interactome in keratinocytes: a systems biology approach leading to an understanding of the pathogenesis of skin disease. *Cell Mol Life Sci CMLS*. novembre 2009;66(21):3517–33
16. Dąbrowska AK, Spano F, Derler S, Adlhart C, Spencer ND, Rossi RM. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI*. maggio 2018;24(2):165–74.
17. Descotes J: Immunotossicità degli anticorpi monoclonali . *MAbs*. 2009, 1:104-11. 10.4161/mabs.1.2.7909
18. Ebnet K. Organization of multiprotein complexes at cell-cell junctions. *Histochem Cell Biol*. luglio 2008;130(1):1–20.
19. Egami S, Yamagami J, Amagai M. Autoimmune bullous skin diseases, pemphigus and pemphigoid. *J Allergy Clin Immunol*. aprile 2020;145(4):1031–47.

20. Furuse M, Tsukita S. Claudins in occluding junctions of humans and flies. *Trends Cell Biol.* aprile 2006;16(4):181–8.
21. Getsios S, Huen AC, Green KJ. Working out the strength and flexibility of desmosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* aprile 2004;5(4):271–81.
22. GUILLAUME J.C. e coll. - *Arch. Dermatol.*, 1988, 124, 1659.
23. Hatsell S, Cowin P. Deconstructing desmoplakin. *Nat Cell Biol.* dicembre 2001;3(12):E270-272.
24. Hertl M, Jedlickova H, Karpati S, Marinovic B, Uzun S, Yayli S, et al. Pemphigus. S2 Guideline for diagnosis and treatment--guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* marzo 2015;29(3):405–14.
25. Hoffmann K, Hertl M, Sitaru C. [Molecular diagnosis of autoimmune dermatoses]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* Gennaio 2016;67(1):33–9.
26. Ishii K, Amagai M, Hall RP, Hashimoto T, Takayanagi A, Gamou S, et al. Characterization of autoantibodies in pemphigus using antigen-specific enzymelinked immunosorbent assays with baculovirus-expressed recombinant desmogleins. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 agosto 1997;159(4):2010–7.
27. James KA, Culton DA, Diaz LA. Diagnosis and clinical features of pemphigus foliaceus. *Dermatol Clin.* 2011 Jul;29(3):405-12, viii.
28. James KA, Culton DA, Diaz LA. Diagnosis and clinical features of pemphigus foliaceus. *Dermatol Clin.* 2011 Jul;29(3):405-12, viii.
29. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(10):844–57
30. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. *JDDG J Dtsch*

Dermatol Ges. 2011;9(10):844–57

- 31.Koch PJ, Franke WW. Desmosomal cadherins: another growing multigene family of adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol.* ottobre 1994;6(5):682–7.
- 32.Kridin K, Schmidt E. Epidemiology of Pemphigus. *JID Innov.* 2021 Feb 20;1(1):100004
- 33.Kridin K. Emerging treatment options for the management of pemphigus vulgaris. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14:757–78.
- 34.LEYER W.F. e coll. *Arch. Dermatol.*, 1984, 120, 44.
- 35.Lotti R, Shu E, Petrachi T, Marconi A, Palazzo E, Quadri M, Lin A, O'Reilly LA, Pincelli C. Soluble Fas Ligand Is Essential for Blister Formation in Pemphigus. *Front Immunol*
- 36.Lotti R, Shu E, Petrachi T, Marconi A, Palazzo E, Quadri M, Lin A, O'Reilly LA, Pincelli C. Soluble Fas Ligand Is Essential for Blister Formation in Pemphigus. *Front Immunol*
- 37.Maity S, Banerjee I, Sinha R, Jha H, Ghosh P, Mustafi S. Nikolsky's sign: A pathognomic boon. *J Family Med Prim Care.* 2020 Feb 28;9(2):526-530
- 38.Malik AM, Tupchong S, Huang S, Are A, Hsu S, Motaparathi K. An Updated Review of Pemphigus Diseases. *Medicina (Kaunas).* 2021 Oct 9;57(10):1080
- 39.Malik AM, Tupchong S, Huang S, Are A, Hsu S, Motaparathi K. An Updated Review of Pemphigus Diseases. *Medicina (Kaunas).* 2021 Oct 9;57(10):1080
- 40.Melchionda V, Harman KE. Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an overview of the clinical presentation, investigations and management. *Clin Exp Dermatol.* 2019;44(7):740–6.
- 41.Mentink LF, Mackenzie MW, Tóth GG, Laseur M, Lambert FPG, Veeger NJGM, et al. Randomized controlled trial of adjuvant oral dexamethasone pulse therapy in pemphigus vulgaris: PEMPULS trial. *Arch Dermatol.* Maggio 2006;142(5):570–6.

- 42.Meşe G, Richard G, White TW. Gap junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol.* novembre 2007;127(11):2516–24
- 43.Mindorf S, Dettmann IM, Krüger S, Fuhrmann T, Rentzsch K, Karl I, Probst C, Komorowski L, Fechner K, Beek N van, Lemcke S, Sárdy M, Bangert C, Benoit S, Hashimoto T, Zillikens D, Pas HH, Jonkman MF, Stöcker W, Schmidt E. Routine detection of serum antidesmocollin autoantibodies is only useful in patients with atypical pemphigus. *Exp Dermatol.* 2017;26(12):1267–70.
- 44.Mutasim DF, Adams BB. Immunofluorescence in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* dicembre 2001;45(6):803–22; quiz 822–4.
- 45.Ng PPL, Thng STG, Mohamed K, Tan SH. Comparison of desmoglein ELISA and indirect immunofluorescence using two substrates (monkey oesophagus and normal human skin) in the diagnosis of pemphigus. *Australas J Dermatol.* novembre 2005;46(4):239–41.
- 46.Nousari HC, Sragovich A, Kimyai-Asadi A, Orlinsky D, Anhalt GJ. Mycophenolate mofetil in autoimmune and inflammatory skin disorders. *J Am Acad Dermatol.* febbraio 1999;40(2 Pt 1):2658.
- 47.Patel F, Wilken R, Patel FB, Sultani H, Bustos I, Duong C, et al. Pathophysiology of Autoimmune Bullous Diseases: Nature Versus Nurture. *Indian J Dermatol [Internet].* 2017 [citato 14 giugno 2023];62(3):262–7. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5448260/>
- 48.PENNEYS N. e coll. - *Arch. Dermatol.*, 1976, 112, 185. 10] SALOMON D. e coll. *Dermatologica*, 1986, 172, 310. [
- 49.Piccio L, Naismith RT, Trinkaus K, Klein RS, Parks BJ, Lyons JA, Cross AH: Cambiamenti nei livelli di linfociti B e T e di chemochine con il trattamento con rituximab nella sclerosi multipla . *Arco Neurol.* 2010, 67:707-14. 10.1001/archneurol.2010.99
- 50.Porro AM, Seque CA, Ferreira MCC, Enokihara MMS e S. Pemphigus 80 vulgaris. *An Bras Dermatol*

- [Internet]. giugno 2019 [citato 4 maggio 2023];94(3):264. Disponibile su:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6668932/>
51. Ramwadhoebe TH, van Baarsen LG, Boumans MJ, et al.: Effetto del trattamento con rituximab sui sottogruppi di cellule T e B nelle biopsie linfonodali di pazienti con artrite reumatoide . *Reumatologia (Oxford)*. 2019, 58:1075-85. 10.1093/reumatologia/key428
52. Santoro FA, Stoopler ET, Werth VP. Pemphigus. *Dent Clin North Am*. 2013 Oct;57(4):597-610
53. Saschenbrecker S, Karl I, Komorowski L, Probst C, Dährich C, Fechner K, et al. Serological Diagnosis of Autoimmune Bullous Skin Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 20 agosto 2019 [citato 14 giugno 2023];10:1974. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6736620/>
54. Schmidt E, Waschke J. Apoptosis in pemphigus. *Autoimmun Rev*. 2009 Jun;8(7):533-7
55. Schmidt E, Waschke J. Apoptosis in pemphigus. *Autoimmun Rev*. 2009 Jun;8(7):533-7.
56. Schuerwegh AJ, Dombrecht EJ, Stevens WJ, Van Offel JF, Bridts CH, De Clerck LS: Influenza dei fattori proinfiammatori (IL-1 alfa, IL-6, TNF-alfa, IFN-gamma) e antinfiammatori (IL- 4) citochine sulla funzione dei condrociti . *Cartilagine osteoartrosica*. 2003, 11:681-7. 10.1016/s1063-4584(03)00156-0
57. Simpson CL, Patel DM, Green KJ. Deconstructing the skin: cytoarchitectural determinants of epidermal morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 23 agosto 2011;12(9):565–80
58. Singh V, Gupta D, Almasan A: Sviluppo di nuovi anticorpi monoclonali anti-CD20 e modulazione dei livelli di CD20 sulla superficie cellulare: cercando di migliorare la risposta immunoterapica . *J Cancer Sci Ther*. 2015, 7:347-58. 10.4172/1948-5956.1000373
59. Sumigray KD, Lechler T. Cell Adhesion in Epidermal Development and Barrier Formation. *Curr Top Dev Biol* [Internet]. 2015 [citato 23 aprile 2023];112:383–414. Disponibile su:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4737682/>

60. Takeichi M. Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface proteins. *J Cell Biol.* novembre 1977;75(2 Pt 1):464–74.
61. Tavakolpour S. Current and future treatment options for pemphigus: Is it time to move towards more effective treatments? *Int Immunopharmacol* [Internet] 1 dicembre 2017 [citato 7 maggio 2023];53:133–42. Disponibile su <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576917304058>
62. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* aprile 2001;2(4):285–93.
63. Van ATT, Nguyen TV, Huu SN, Thi LP, Minh PPT, Huu N, Cam VT, Huyen ML, Nguyet MV, Hau KT, Gandolfi M, Satolli F, Feliciani C, Tirant M, Vojvodic A, Lotti T. Improving Treatment Outcome of Pemphigus Vulgaris on Vietnamese Patients by Using Desmoglein Elisa Test. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019 Jan 22;7(2):195-197
64. van Beek N, Zillikens D, Schmidt E. Diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* settembre 2018;16(9):1077–91.
65. Wang T, Mei Y, Li Z: Progressi della ricerca sulle cellule B regolatorie nel lupus eritematoso sistemico . *Biomed Res Int.* 2019, 2019:7948687. 10.1155/2019/7948687
66. Wang T, Mei Y, Li Z: Progressi della ricerca sulle cellule B regolatorie nel lupus eritematoso sistemico . *Biomed Res Int.* 2019, 2019:7948687. 10.1155/2019/7948687
67. Weiner LM, Dhodapkar MV, Ferrone S: Anticorpi monoclonali per l'immunoterapia del cancro . *Lancetta.* 2009, 373:1033-40. 10.1016/S0140-6736(09)60251-8
68. Xu HH, Werth VP, Parisi E, Sollecito TP. Mucous membrane pemphigoid. *Dent Clin North Am.* 2013 Oct;57(4):611-30
69. Yap HY, Tee SZ, Wong MM, Chow SK, Peh SC, Teow SY: Ruolo patogeno delle cellule immunitarie nell'artrite

- reumatoide: implicazioni nel trattamento clinico e nello sviluppo di biomarcatori . *Celle*. 2018, 7:161.
10.3390/cells7100161
70. Zakka LR, Shetty SS, Ahmed AR: Rituximab nel trattamento del pemfigo volgare . *Dermatol Ther (Heidelb)*.
2012, 2:17. 10.1007/s13555-012-0017-3
71. Delate T, Hansen ML, Gutierrez AC, Le KN. Indications for rituximab use in an integrated health care delivery
system. *J Manag Care Spec Pharm*. 2020;26(7):832–838. doi:10.18553/jmcp.2020.26.7.832
72. Craythorne E, du Viver A, Mufti GJ, Warnakulasuriya S. Rituximab for the treatment of corticosteroid-refractory
pemphigus vulgaris with oral and skin manifestations. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(8):616–620.
doi:10.1111/j.1600-0714.2011.01017.x
73. Fortuna G, Calabria E, Ruoppo E, et al. The use of rituximab as an adjuvant in the treatment of oral pemphigus
vulgaris. *J Oral Pathol Med*. 2020;49(1):91–95. doi:10.1111/jop.12951
- 74.. EMA MabThera. European medicines agency; September 17, 2018. Available from:
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mabthera>. Accessed July 28, 2022.
75. Genentech. Rituxan® (rituximab [Oncology]). Information for healthcare providers. Available from:
<https://www.gene.com/medical-professionals/medicines/rituxan-oncology>. Accessed July 28, 2022.
- 76.. Hale M, Rawlings DJ, Jackson SW. The long and the short of it: insights into the cellular source of autoantibodies
as revealed by B cell depletion therapy. *Curr Opin Immunol*. 2018;55:81–88. doi:10.1016/j.coi.2018.10.008
77. Hoyer BF, Moser K, Hauser AE, et al. Short-lived plasmablasts and long-lived plasma cells contribute to chronic
humoral autoimmunity in NZB/W mice. *J Exp Med*. 2004;199(11):1577–1584. doi:10.1084/jem.20040168
- 78.. Mouquet H, Musette P, Gougeon ML, et al. B-cell depletion immunotherapy in pemphigus: effects on cellular
and humoral immune responses. *J Invest Dermatol*. 2008;128(12):2859–2869. doi:10.1038/jid.2008.178
79. Kim JH, Kim YH, Kim MR, Kim SC. Clinical efficacy of different doses of rituximab in the treatment of

- pemphigus: a retrospective study of 27 patients. *Br J Dermatol.* 2011;165(3):646–651. doi:10.1111/j.1365-2133.2011.10411.x
- 80.. Russo I, Miotto S, Saponeri A, Alaibac M. Ultra-low dose rituximab for refractory pemphigus vulgaris: a pilot study. *Expert Opin Biol Ther.* 2020;20(6):673–678. doi:10.1080/14712598.2020.1727440
- 81.Kanwar AJ, Vinay K, Sawatkar GU, et al. Clinical and immunological outcomes of high- and low-dose rituximab treatments in patients with pemphigus: a randomized, comparative, observer-blinded study. *Br J Dermatol.* 2014;170(6):1341–1349. doi:10.1111/bjd.12972
- 82.. Cho HH, Jin SP, Chung JH. Clinical experiences of different dosing schedules of rituximab in pemphigus with various disease severities. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014;28(2):186–191. doi:10.1111/jdv.12080
- 83.Russo I, Miotto S, Saponeri A, Alaibac M. Ultra-low dose rituximab for refractory pemphigus vulgaris: a pilot study. *Expert Opin Biol Ther.* 2020;20(6):673–678. doi:10.1080/14712598.2020.1727440
- 84.Fernandez-Martinez M, Esterlich E, Vallano A, Danés I, Agustí A. Off-label uses of low-dose Rituximab: a systematic review of the Literature. *Clin Ther.* 2015;37(8):e117–e118. doi:10.1016/j.clinthera.2015.05.336
- 85.Didona D, Maglie R, Eming R, et al. Pemphigus: Current and Future Therapeutic Strategies. *Front Immunol.* 2019;10:1418.
- 86.Huang A, Madan RK, Levitt J. Future therapies for pemphigus vulgaris: Rituximab and beyond. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(4):746-53.
87. Eming R, Nagel A, Wolff-Franke S, Podstawa E, Debus D, Hertl M. Rituximab exerts a dual effect in pemphigus vulgaris. *J Invest Dermatol.* 2008;128:2850-2858
- 88.. Arin MJ, Engert A, Krieg T, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) in the treatment of pemphigus. *Br J Dermatol.* 2005;153(3):620-5.
89. Morrison LH. Therapy of refractory pemphigus vulgaris with monoclonal anti-CD20 antibody (rituximab). *J Am*

Acad Dermatol. 2004;51(5):817-9

90. Cianchini G, Lupi F, Masini C, et al. Therapy with rituximab for autoimmune pemphigus: results from a single-center observational study on 42 cases with long-term follow-up. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(4):617-22
91. Leshem YA, Hodak E, David M, et al. Successful treatment of pemphigus with biweekly 1-g infusions of rituximab: a retrospective study of 47 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(3):404-11
92. Horváth B, Huizinga J, Pas HH, et al. Low-dose rituximab is effective in pemphigus. *Br J Dermatol.* 2012;166(2):405-12
93. Hertl M, Jedlickova H, Karpati S, et al. Pemphigus. S2 Guideline for diagnosis and treatment--guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(3):405-14.
94. Wang HH, Liu CW, Li YC, et al. Efficacy of rituximab for pemphigus: a systematic review and meta-analysis of different regimens. *Acta Derm Venereol.* 2015;95(8):928-32.
95. Schoergenhofer C, Schwameis M, Firbas C, et al. Single, very low rituximab doses in healthy volunteers - a pilot and a randomized trial: implications for dosing and biosimilarity testing. *Sci Rep.* 2018;8
96. Joly P, Mouquet H, Roujeau JC et al. A single cycle of rituximab for the treatment of severe pemphigus. *N Engl J Med* 2007; 357: 545– 552.
97. Lunardon L, Tsai KJ, Propert KJ et al. Adjuvant rituximab therapy of pemphigus: a single-center experience with 31 patients. *Arch Dermatol* 2012; 148: 1031–1036.
98. Joly P, Maho-Vaillant M, Prost-Squarcioni C, et al. First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (Ritux 3): a prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial. *Lancet.* 2017;389(10083):2031–2040. doi:10.1016/S0140-6736(17)30070-3
99. Alaeen H, Toosi R, Mahmoudi H, et al. Short-term clinical and serological follow-up with conventional and

- conformational anti-desmoglein antibodies in treatment-naïve and previously treated patients with pemphigus vulgaris after receiving rituximab. *Int J Womens Dermatol*. 2019;5 (5):372–377. doi:10.1016/j.ijwd.2019.05.008
100. Kanwar AJ, Vinay K, Sawatkar GU, et al. Clinical and immunological outcomes of high- and low-dose rituximab treatments in patients with pemphigus: a randomized, comparative, observer-blinded study. *Br J Dermatol*. 2014;170(6):1341–1349. doi:10.1111/bjd.12972
101. Tavakolpour S, Aryanian Z, Seirafianpour F, et al. A systematic review on efficacy, safety, and treatment-durability of low-dose rituximab for the treatment of Pemphigus: special focus on COVID-19 pandemic concerns. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2021;43(5):507–518. doi:10.1080/08923973.2021.1953063
102. Balighi K, Daneshpazhooh M, Mahmoudi H, et al. Comparing early and late treatments with rituximab in pemphigus vulgaris: which one is better? *Arch Dermatol Res*. 2019;311(1):63–69. doi:10.1007/s00403-018-1881-1
103. Colliou N, Picard D, Caillot F, et al. Long-term remissions of severe pemphigus after rituximab therapy are associated with prolonged failure of desmoglein B cell response. *Sci Transl Med*. 2013;5(175):175ra30. doi:10.1126/scitranslmed.3005166
104. Didona D, Maglie R, Eming R, Hertl M. Pemphigus: current and Future Therapeutic Strategies. *Front Immunol*. 2019;10:1418. doi:10.3389/fimmu.2019.01418
105. Hebert V, Joly P. Rituximab in pemphigus. *Immunotherapy*. 2018;10(1):27–37. doi:10.2217/imt-2017-0104
106. Murrell DF, Peña S, Joly P, et al. Diagnosis and management of pemphigus: recommendations of an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol*. 2020;82(3):575–585.e1. doi:10.1016/j.jaad.2018.02.021
107. Aryanian Z, Balighi K, Daneshpazhooh M, et al. Rituximab exhibits a better safety profile when used as a first line of treatment for pemphigus vulgaris: a retrospective study. *Int Immunopharmacol*. 2021;96:107755.

doi:10.1016/j.intimp.2021.107755

108. Nosrati A, Mimouni T, Hodak E, et al. Early rituximab treatment is associated with increased and sustained remission in pemphigus patients: a retrospective cohort of 99 patients. *Dermatol Ther.* 2022;35(5):e15397.

doi:10.1111/dth.15397

8 Ringraziamenti :

Vorrei innanzitutto ringraziare me stesso per questi sei anni. Non mi sono mai deluso, rimanendo sempre forte, pieno di passione e ottimismo. È grazie alla mia determinazione e forza che sono arrivato dove sono oggi. Senza di me, senza la mia coerenza e la mia resilienza, non avrei mai raggiunto questo traguardo. Vorrei ringraziare soprattutto la mia famiglia: mio padre e mia madre, che hanno dato tutto ciò che avevano per portarci dove siamo oggi. Ci hanno permesso di lasciare casa e venire qui a studiare. Ringrazio mia madre, che ci ha insegnato tutto fin da piccoli: cucinava per noi, ci aiutava a studiare, ed è sempre il nostro sostegno quando abbiamo problemi, cercando sempre di risolverli. Ringrazio mio padre, perché senza di lui non saremmo mai arrivati dove siamo ora e non avremmo avuto neanche l'opportunità di fare tutto ciò che abbiamo fatto fino ad oggi. Vi amo tantissimo. Ringrazio anche i miei fratelli, che mi sono stati sempre vicini e mi aiutano ogni volta che ne ho bisogno.

Vorrei ringraziare anche i miei amici, che mi sono stati sempre vicini. Un ringraziamento speciale va alle mie tre meravigliose amiche che mi hanno reso felice negli ultimi due anni: Rayan, una persona meravigliosa, molto sensibile, onesta e davvero in gamba; Rachelle, la nutrizionista sempre piena di vita e di buone vibrazioni, sempre presente quando ne ho bisogno. È grazie a lei che posso mangiare di tutto; Joelle, la persona più calma, onesta e buona che abbia mai conosciuto. Aiuta tutti, è molto determinata nella sua vita e sa cosa vuole. È una persona davvero in gamba. Vi ringrazio di cuore per essere parte della mia vita.

Vorrei ringraziare i due Moe, che sono anche parte del mio gruppo libanese. Vi voglio un mondo di bene. Grazie a voi, in questi due anni ho riso tantissimo e mi sono divertito tanto. Vi voglio tantissimo bene. Ringrazio anche i miei amici italiani che mi sono stati vicini. Comincio con Gabriele, la persona più bella e ottimista che abbia mai conosciuto. Ti ringrazio perché mi hai sempre ascoltato in questi quattro anni, mi hai aiutato e mi hai dato la motivazione per fare tutto: andare in palestra, mangiare sushi, ballare insieme e divertirci un sacco. Ringrazio anche Nicolò, con cui vado sempre a ballare. Abbiamo fatto il ponpon insieme e abbiamo parlato di tante persone con quegli sguardi schifosi. Anche se non rispondi mai ai messaggi e dai sempre buca, ti voglio tanto bene. Ringrazio anche Vincenzo Fotti, il nostro medico che sarà sempre il nostro riferimento, e Vincenzo Guasco, il nostro bambino che è cresciuto velocissimo. Ringrazio Giorgio, Stefano, Paolo e Lorenzo, che si sono aggiunti quest'anno. Vi voglio un mondo di bene. Ringrazio i miei amici di Bressanone: Beppe, Chiara e Francesco. Avete reso le mie due settimane a Bressanone le più belle della mia vita. Ringrazio i miei amici da quando sono arrivato qui: Adriana, il mio cuore di panna, dolcissima e adorabile, che ama la natura, la vita e la cucina, e mi ha fatto amare la cucina vegana con le sue ricette. Abbiamo ballato tantissimo insieme e

vissuto tante esperienze. Ti voglio tanto bene. Valentina, la mia dabdoubti, a cui ho rotto i coglioni tantissimo e che mi ha supportato un sacco. Abbiamo ballato insieme, mangiato insieme lasagne, pasta, insalata di riso e molto altro. Sei davvero il mio raggio di sole. Ringrazio anche Ema, il mio Big di 30 cm più alto di me. Ti abbracerò sempre, ti voglio tanto bene. Ringrazio Nura, Hala, Jana, Nour, Francesco, Jaro e tutti gli altri perché fate parte della mia vita. Vi voglio bene a tutti. Ringrazio l'Università di Padova per avermi fornito un bagaglio di conoscenze e informazioni preziose, che hanno arricchito il mio percorso formativo. Ringrazio il Professore Mauro Alaibac, il quale non solo mi ha insegnato molte cose, ma mi ha anche sostenuto durante la stesura della tesi e reso questo percorso accademico così interessante. Grazie anche a Padova, che mi ha fatto sentire davvero a casa. Ringrazio Lille e tutti i miei amici là, per avermi fatto innamorare della Francia. Un ringraziamento speciale va anche a Francoforte e ai miei amici in Germania.