

Rituximab – monoklonálna protilátka anti-CD20, liečba pemphigus vulgaris, prehľad problematiky a prvé výsledky liečby vysokodávkovým imunoglobulínom v kombinácii s rituximabom

Péč, J.¹, Péčová, K., jr.¹, Vorčáková, K.¹, Péčová, T.¹, Kalabová, Z.¹, Martinásková, K.², Urbanček, S.³

¹Dermatovenerologická klinika, Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine
Univerzity Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin;

²Dermatovenerologické oddelenie Fakultnej nemocnice A. Reimana v Prešove;

³Dermatovenerologická klinika Fakultnej nemocnice F.D. Roosevelta v Banskej Bystrici

korešpondencia: klaudiapec@gmail.com

Súhrn

Autori prezentujú problematiku liečby autoimunitných pľuzgiernatých ochorení skupiny pemphigus refraktérnych na imunosupresívnu a imunomodulačnú liečbu rituximabom – murínnou chimerickou monoklonálnou protilátkou anti-CD20 B-buniek. Autori uvádzajú prehľad účinkov rituximabu na bunku – apoptózu, cytolýzu a fagocytózu. Rituximab bol pôvodne pripravený a registrovaný na liečbu chemoterapeuticky refraktérnych non-Hodginových lymfómov B-bunkového typu „low grade“. Postupne, na základe mechanizmov účinku, bolo terapeutické spektrum rituximabu rozšírené aj na ďalšie, život ohrozujúce ochorenia. Jedným z nich sú aj ochorenia skupiny pemphigus. Na základe literárneho prehľadu, sa ako jedna z najlepších liečebných schém pemphigus vulgaris ukazuje kombinovaná terapia rituximabu s intravenózne podávanými vysokodávkovými imunoglobulínmi. Po takejto terapii bola v priemere pozorovaná až 31-mesačná remisia ochorenia.

Autori súčasne veľmi stručne informujú o prvých dvoch prípadoch pemphigus vulgaris liečených vysokodávkovými imunoglobulínmi (2g/kg hmotnosti každé 3 – 4 týždne) v kombinácii s rituximabom (375 mg/m²) s úplnou sanáciou prejavov pemphigus vulgaris.

Kľúčové slová: rituximab, CD20 B-bunka, apoptóza, cytolýza, fagocytóza, vysokodávkový imunoglobulín, pemphigus vulgaris

Abstract

The authors explore the issue pertinent to treatment of pemphigus, autoimmune blistering disease group, resistant to immunosuppressive and immunomodulating therapy with rituximab – murine chimeric monoclonal antibody anti-CD20. The authors provide an overview of the effects of rituximab at the cellular level (apoptosis, cytolysis, phagocytosis). The therapeutic spectrum of rituximab, originally developed and licensed for the therapy of „low-grade“ non-Hodgkin B-cell lymphoma“ refractory to chemotherapy, had been gradually expanded on the basis of its mechanisms of action to other life-threatening diseases such as the pemphigus group. According to the literary review, combined therapy with rituximab and intravenously administered high-dose immunoglobulines appears to be the best treatment option for pemphigus therapy. After this treatment, a mean of up to 31-month remission has been observed.

The authors shortly described two cases of pemphigus vulgaris treated by high dose immunoglobulins (2,0g/kg of body weight every 3 – 4 weeks) combined with rituximab (375 mg/m²) with complete remission of clinical symptoms of pemphigus vulgaris.

Key words: rituximab, CD20 B cell, apoptosis, cytolysis, phagocytosis, high dose immunoglobulin, pemphigus vulgaris

Definícia Rituximabu

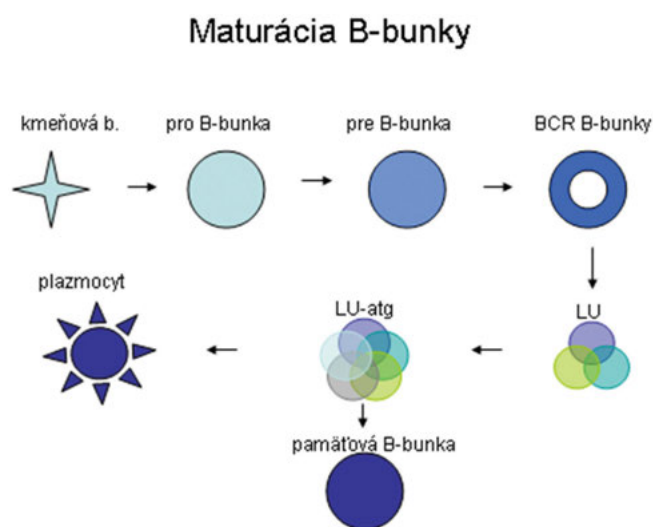
Rituximab (ďalej RTX) je humánna murínna chimerická monoklonálna protilátka špecificky cielená proti transmembránovému povrchovému proteín CD20 B-buniek. Fab časť RTX rozpoznáva sekvenciu 4 aminokyselín extracelulárnej slučky CD20 molekuly B-bunkového-celulárneho receptora (BCR), čím sa výrazne znižuje počet periférnych cirkulujúcich B-buniek. Chimerická anti-CD20

protilátka bola vyvinutá Reffom a spol. [1] na základe fúzie myšieho variabilného regiónu s humánnym IgG1 ťažkým a ľahkým reťazcom.

Maturácia B-lymfocytov

B-lymfocytárny CD20 špecifický antigén bol identifikovaný v roku 1980 Stashenkom a spol. [2]. CD20 je B-bunkový špecifický antigén exprimovaný na povrchu

B-lymfocytov v procese ich diferenciacie od pre B-bunkových línií až po zrelé štádiá B-buniek (Obr. 1), nie však na plazmatických a kmeňových bunkách. Absencia CD20 na plazmatických bunkách vysvetľuje, prečo v priebehu a po liečbe RTX neklesajú sérové hladiny imunoglobulínov [3]. Terstappen a spol. [4] však na základe vyšetrení prietokovou cytometriou udávajú, že asi 20% plazmatických buniek v kostnej dreni môže exprimovať CD20. Akceptuje sa, že expresia CD20 sa objavuje už v pre-B-lymfocytoch a expresia pokračuje v procese maturácie (dozrievania) B-lymfocytov.



Obr. 1 • Proces dozrievania B-lymfocytov (LU-lymfatická uzlina, LU-atg-antigénna stimulácia v lymfatickej uzline)

B-bunky sú odvodené od prekursorov hemopoetickej kmeňovej bunky v kostnej dreni, kde postupne prechádzajú vývojom cez pro, pre a nezrelé B-bunky na zrelé B-bunky na svojom povrchu už obsahujúce BCR, ktoré opúšťajú kostnú dreň a smerujú do folikulárných lymfoidných tkanív (lymfatické uzliny, slezina, lymfoidné tkanivo slizníc). Keď B-celulárny receptor povrchu zrelých B-buniek sa stretne so svojim známym antigénom, B-bunky proliferujú na pamäťové a plazmatické bunky produkujúce protilátky (Obr. 1). V zdravom imunitnom systéme B-bunky rozlišujú (tolerujú) svoje antigény a viažu sa jedine s nevlastnými antigénmi. Túto imúnnu toleranciu voči svojim antigénom získavajú B-bunky v kostnej dreni v priebehu vývoja, kde nezrelé B-bunky spoznávajú svoje antigény v procese apoptózy, alebo zmien svojej antigénnej špecifickosti. V dôsledku čoho tieto bunky strácajú schopnosť imunogénne (tvorbou protilátok) odpovedať na svoje vlastné antigény. Pri autoimunitných chorobách je tento mechanizmus porušený a vzniká generácia patogénnych, na vlastné antigény reagujúcich B-buniek [5].

Mechanizmus účinku rituximabu

Rituximab navodzuje depléciu B-buniek viacerými mechanizmami v závislosti od etiopatogenézy ochorenia. Rituximab sa viaže na CD20 exprimujúce B-lymfocyty [6] vrátane nezrelých B-buniek kostnej drene [7], autoantigénom aktivovaných folikulárných B-buniek lymfatickej uzliny [8],

autoantigénom aktivovaných B-buniek marginálnej zóny lymfatickej uzliny a pamäťových buniek [9]. V podstate môžeme hovoriť o štyroch mechanizmoch účinku RTX:

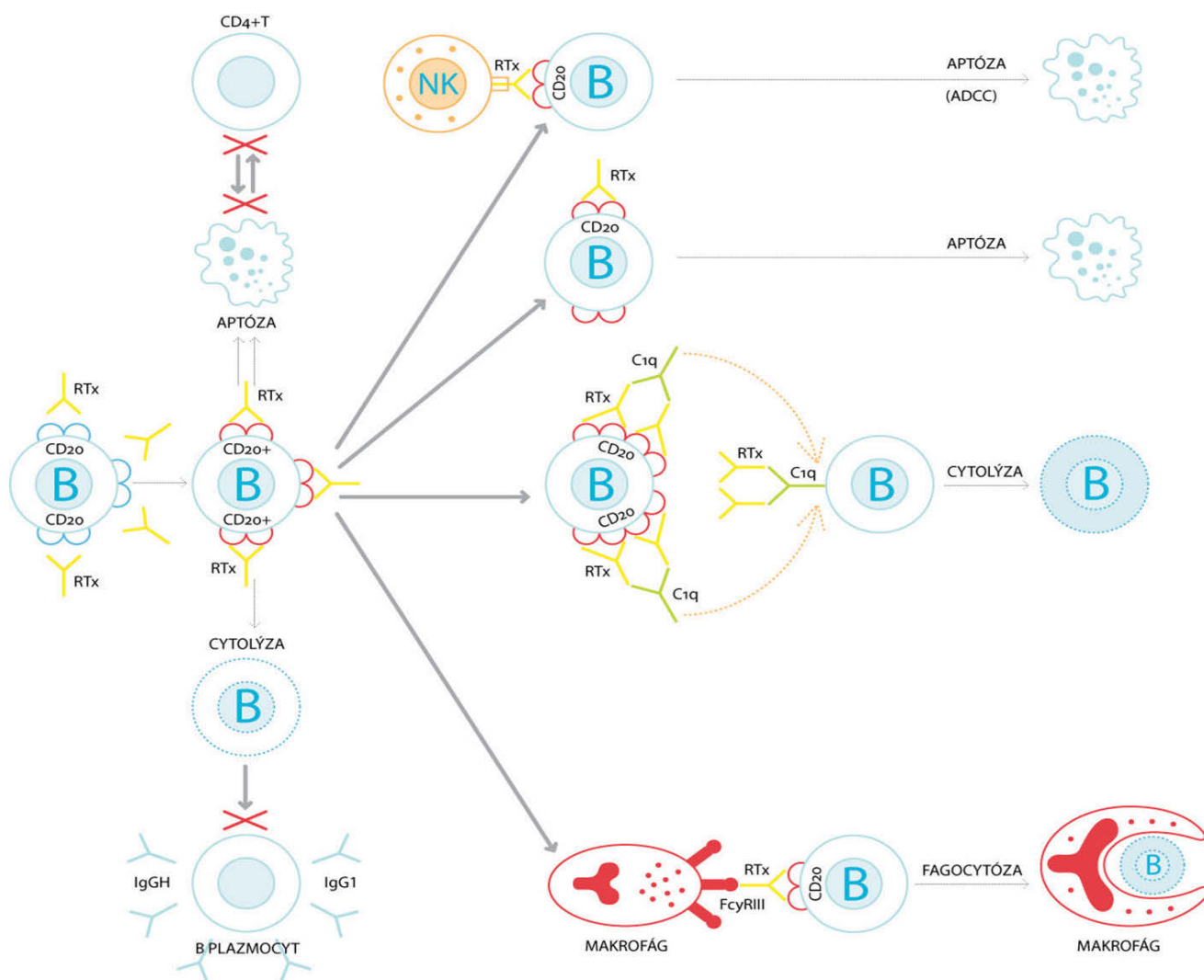
1. Rituximab môže navodiť zabitie B-buniek prirodzenými zabijákmi (NK) v dôsledku bunkovej cytotoxicity (ADCC – antibody dependent cellular cytotoxicity) závislej od protilátok (Obr. 2);
2. Druhým mechanizmom je navodenie apoptózy väzbou RTX na povrchový transmembránový CD20 proteín B-buniek nádorových línií (obr. 2). Apoptóza je navodená aktivitou MAP kinázy a aktiváciou p38;
3. Tretí mechanizmus účinku môže byť RTX navodená od komplementu závislá bunková cytotoxicita B-buniek, nakoľko táto humánna chimerická protilátka je schopná viazať aj humánny komplement (Obr. 2, 10). Rozdielna vnímavosť nádorových a patologických B-buniek na RTX môže závisieť od exprese komplement regulačných proteínov (CRP cieľových buniek, ako sú CD46, CD55 a CD59. Komplement regulačné proteíny však môžu interferovať s funkciou RTX a môžu byť na druhej strane aj príčinou rezistencie bunkovej línie voči RTX;
4. Štvrtým mechanizmom účinku RTX môže byť navodenie opsonizácie B-buniek a ich následná fagocytóza bunkami retikulo-endoteliálneho systému (Obr. 2).

Všetkými uvedenými mechanizmami dochádza ku RTX rýchlo navodenej B-bunkovej deplécii v cirkulácii a tiež, aj keď v menšom rozsahu, aj v lymfatických uzlinách (vo folikulárnom lymfoidnom tkanive) [1]. Po jednom liečebnom cykle môže dôjsť k 6 – 12 mesačnej deplécii B-buniek, vrátane B-buniek malígnych [11]. Okrem toho, po jednom podaní RTX bola pozorovaná signifikantná redukcia INF-gama secerňujúcich T-buniek (Th1) a Dsg3-špecifických IL-4 produkujúcich T-buniek (Th2) [12]. Rituximab má terapeutický účinok aj na autoimunitné ochorenia, sprostredkované T-bunkami, ako je napríklad reumatoidná artritída. Predpokladá sa dodatočný spôsob účinku RTX na proces prezentácie autoantigénov, pomocou v prospech autoreaktívnych T-buniek a produkciu T-bunkami modulujúcich cytokínov [13].

Problémom však ostáva zlyhanie liečby RTX v dôsledku už spomenutej exprese komplement regulačných proteínov, ako aj rýchlo sa vyvíjajúca rezistencia nádorových buniek proti navodeniu apoptózy [14].

Rituximab - registrovaná liečba

Rituximab bol pôvodne pripravený a registrovaný na liečbu chemoterapeuticky refraktérnych non-Hodgkinových B-bunkových lymfómov (NHL) „low grade“ typu CD20 B-bunkový „low grade“ NHL, folikulárny NHL difúzny obrovsko bunkový B-celulárny lymfóm, indolentný NHL) a neskôr aj na liečbu reumatoidnej artritídy. Jeho mechanizmus účinku však stále viac sa využíva, a to s veľmi dobrým liečebným efektom, aj u iných autoimunitných ochorení, ako reumatoidná artritída, vznikajúcich na imunologickom podklade, v ktorých etiopatogenéze zohráva dôležitú úlohu CD20 B-lymfocyt.



Vysvetlivky: APTÓZA - apoptóza, RTX - rituximab, IgG1 - imunoglobulín G1, C1q - zložka komplementu, CD20 - receptor B-bunky, Fc RIII - receptor opsonizácie na povrchu makrofágu, CD4+ T-lymocyty (helpery)

Obr. 2 • Mechanizmy účinku rituximabu na B-bunkové línie [13, 15]

Rituximab sa podáva v intravenózne infúzií jednorazovo v priebehu štyroch, po sebe nasledujúcich týždňov v dávke 375 mg/m² [3]. V pokuse liečiť reumatoidnú artritídu RTX v dávke nad 600 mg/m² sa pozoroval väčší terapeutický efekt bez vedľajších účinkov liečby. V liečbe NHL B-celulárneho typu RTX boli vo väčšine prípadov zaznamenané iba mierne nežiaduce účinky liečby ako teploty, zimnica, nauzea, hypotenzia, trombocytopénia, alebo exantém. Tieto prejavy obyčajne ustúpili po podaní antipyretík a antihistaminík. Pri následnom podaní RTX sa objavili už v miernejšej podobe, alebo sa viac neopakovali [16]. Ťažké nežiaduce účinky liečby RTX sú zriedkavé. U pacientov s hematologickými malignitami liečených RTX nežiaduce účinky liečby boli pravdepodobne v priamej súvislosti so syndrómom lýzy tumoru. Bola pozorovaná reaktivácia vírusovej hepatitídy B

s prechodom až do fulminantnej hepatitídy B, intersticiálna pneumonitída, sepsa vyvolaná vírusom varicella - zoster, ťažká neutropénia, autoimunitná hemolytická anémia, autoimunitná trombocytopénia, ako aj dlhodobopretrvávajúca hypogamaglobulinémia, Kaposiho sarkóm, syndroma Stevens-Johns, exsudatívna enteropatia [13, 17].

Rituximab - možné využitie v dermatológii

Na základe prehľadu literárnych údajov, ktorých v poslednom období výrazne pribúda, bol RTX s úspechom použitý v liečbe viacerých závažných, život ohrozujúcich ochorení s dermatologickou symptomatológiou, refraktérnych na dovtedy dostupnú a v klinickej praxi používanú, predovšetkým imunosupresívnu a imunomodulačnú liebu (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1 • Liečba dermatóz rituximabom

Rituximab - liečba ochorení s dermatologickou symptomatológiou, mimo kategorizácie

Primárne kožné B-bunkové lymfómy (PCBCL) [18]

Pemphigus paraneoplasticus

Pemphigus vulgaris a pemphigus foliaceus

Chronická GVHD (reakcia štepú proti hostiteľovi) [19]

Dermatomyositis [20]

Scleroderma

ANCA pozitívna vaskulitída [21]

Subakútny a systémový lupus erythematosus [22]

Vitiligo a Evansov syndróm [23]

Melanoma malignum [24]

Atopická dermatitída [25]

Rituximab, liečba ochorení skupiny pemphigus (pemphigus vulgaris, pemphigus foliaceus a pemphigus paraneoplasticus)

Pemphigus vulgaris je smrteľné pľuzgiernaté mukokutánne autoimunitné ochorenie. Typické lézie sú intraepidermálne vezikuly s akantolýzou a intaktnou bazálnou membránou. V prípadoch ťažkých neliečených foriem umiera do 5 rokov 100% pacientov, u správne imunosuprimovaných alebo imunomodulovaných umiera iba do 5% pacientov, väčšinou na vedľajšie účinky imunosupresívnej liečby [26]. Patogenéza ochorenia stále nie je jasná. Predpokladá sa, že aktivované B-bunky produkujúce autoprotilátky a autoreaktívne T-bunky zamerané priamo proti autoantigénom sú základným patogenetickým mechanizmom autoimunitných bulózných ochorení (skupina pemphigus) [27]. B-bunky, ktoré pôsobia ako antigén prezentujúce bunky, stimulujú desmogleín-3 (Dsg-3) špecifické CD4+ T-bunky produkovať interleukíny IL-4, IL-6, IL-10. Tieto interleukíny sú potrebné na proliferáciu pamäťových B-buniek a na diferenciáciu plazmatických buniek produkujúcich protilátky. B-bunky následne produkujú polyklonálne a monoklonálne protilátky tried IgG1 a IgG4 proti desmogleínom (Dsg-1 a Dsg-3) zo skupiny kadherínov. Desmogleín 1 a 3 sú dva transmembránové komponenty desmozómov, bunkových adhézných proteínových, na kalcium závislých komplexov, spájajúcich bunku s bunkou. Okrem autoantigénov Dsg 1 a 3 sú pre pemphigus vulgaris známe tiež ďalšie autoantigény: desmogleín 4, desmocollíny 1, 2, 3, plakoglobín, desmoplakin 1, 2, cholinergické receptory, pemphaxín, a E-cadherín. Z nich najvýznamnejší je desmogleín 3 [28]. Je možné,

že pemphigus je závislý od jemného balancovania medzi T-lymfocytnými helpermi a supresormi.

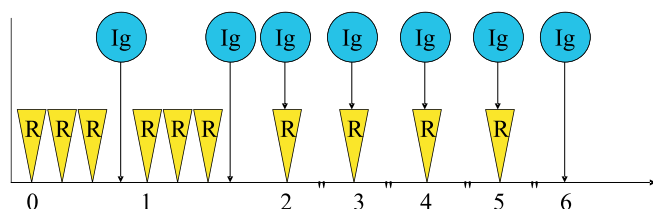
Rituximab je možné podať pacientom s pemphigus vulgaris, ak títo nie sú alergickí na žiadne komponenty lieku, nemajú žiadne závažné ochorenie srdca (arytmia, angina pectoris), pľúc, obličiek či pečene, nemajú žiadnu aktívnu infekciu, neprekonali závažné chronické bakteriálne či vírusové infekcie, ktoré nie sú definitívne vyliečené (nosičstvo B-vírusovej hepatitídy) a nemajú zhubné nádorové ochorenie. Rituximab by sa mohol podávať v prípadoch, ak je ochorenie minimálne 3 mesiace refraktérne na liečbu najmenej dvoch terapeutických schém, vrátane kombinácii so systémovo podávanými glukokortikoidmi (minimálna dávka 1 mg/kg hmotnosti ekvivalentom prednisolónu) s inými imunosupresívami (mykofenolát mofetil, azathioprin, metotrexát) [13].

Rituximab v liečbe pemphigus vulgaris sa najčastejšie podáva vo forme štyroch intravenózných infúzií podávaných jeden raz týždenne, v priebehu štyroch nasledujúcich týždňov v jednotlivých dávkach 375 mg/m². Pred podaním infúzie niektorí autori odporúčajú podať paracetamol a antihistaminiká [29], alebo 100 mg metylprednisolónu [30]. Pred a po liečbe RTX je potrebné v prietokovej cytometrii periférnej krvi sledovať hodnoty B-lymfocytov CD19 a CD20, rovnako je vhodné metódou ELISA vyšetrovať hodnoty anti Dsg3 a Dsg1 protilátok. Liečebný efekt RTX na pemphigus refraktérny na inú imunosupresívnu a imunomodulačnú liečbu nastupuje postupne a je impozantný [31]. K úplnej sanácii lézií dochádza v 86% prípadov do 3 mesiacov od ukončenia terapeutického cyklu (4 infúzie RTX v týždňových, po sebe nasledujúcich intervaloch). Relaps pemphigus vulgaris bol pozorovaný

v 86% prípadov do 19 mesiacov po liečbe RTX [12, 32, 33, 34]. Asi u 5% pacientov sa tvoria humánne anti chimerické protilátky, ktoré však neovplyvňujú liečebný efekt RTX a ani sa nepodieľajú na vedľajších účinkoch lieku [30].

Pri liečbe pemphigus vulgaris refraktérneho na inú imunosupresívnu terapiu RTX je pacient mimoriadne vnímavý na infekcie, s možným prechodom do septicémie. Aj z tohto dôvodu sa zaujímavou ukazuje liečebná schéma ochorenia skupiny pemphigus RTX v kombinácii s vysoko dávkovými imunoglobulínmi (IVIG). Ahmed a spol. [32] infúzne podávali 11 pacientom s ťažkou formou pemphigus vulgaris refraktérneho na inú imunosupresívnu terapiu, 375 mg/m² RTX 1-krát týždenne tri po sebe nasledujúce týždne a na štvrtý týždeň podali intravenózne imunoglobulín v dávke 2 g/kg hmotnosti pacienta, čím bol ukončený prvý liečebný cyklus.

Druhý terapeutický cyklus bol zahájený ihneď, druhý nasledujúci mesiac v nezmenenej terapeutickeschéme. Liečba pokračovala v treťom, štvrtom, piatom a šiestom mesiaci, kedy pacienti dostávali v štvortýždňových intervaloch vždy po jednej infúzii RTX a jednej infúzii IVIG v nezmenenej dávke. Každý pacient dostal takto v priebehu liečby celkove 10 infúzií RTX a 6 infúzií IVIG. V prípade, že pacient bol bez klinických prejavov pľuzgiernatého ochorenia, bola mu podaná siedma zaistovacia infúzia imunoglobulínu (Obr. 3).



Obr. 3 • Schéma 6-mesačného podávania rituximabu a IVIG, podľa Ahmeda a spol. [32]

Najčastejšia imunosupresívna alebo imunomodulačná liečba ťažkých foriem ochorenia skupiny pemphigus glukokortikoidy v kombinácii s mykofenolát mofetilom, cyklofosfamidom, azathioprinom, metotrexátom alebo cyklosporínom bola pri liečbe RTX – IVIG postupne znižovaná a v ôsmom týždni od zahájenia tejto liečby aj ukončená. Kompletný ústup prejavov pemphigus bol medzi siedmou a deviatou infúziou, s remisiou ochorenia trvajúcou 22 – 37 mesiacov (priemer 31,1 mesiaca) (Obr. 4, 5, 6, 7).

Výsledky liečby ťažkých foriem pemphigus vulgaris refraktérneho na liečbu s postihnutím viac ako 30 % povrchu tela pacientov RTX sú mimoriadne povzbudivé. Zvlášť zaujímavou sa javí liečba RTX kombinovaná s IVIG. Tieto moderné terapeutické trendy sú novou šancou aj pre toto smrteľné dermatologické ochorenie.

Autoprotilátky a liečba rituximabom

Autoprotilátky proti desmogleinu 1 a 3 v priebehu liečby RTX korelujú s ústupom klinických prejavov pemphigus [7]. Iba u niektorých prípadov ostali ich hladiny nezmenené napriek zlepšeniu klinického obrazu ochorenia. Naproti tomu RTX nemá efekt na hladiny cirkulujúcich antivírusových a antibakteriálnych protilátok triedy IgG (napríklad protilátok navodených vakcináciou) [13]. Názory na túto problematiku sa však s odstupom času môžu zmeniť, nakoľko u troch detí s ochorením skupiny pemphigus bol pozorovaný pokles hladín celkových IgG, ako aj hladín anti-tetanusového toxoidu IgG po liečbe RTX [35].

Dôvod, prečo CD20 pozitívne autoantigén špecifické B-bunky sú vysoko citlivé na účinky RTX oproti ostatným B-lymfocytom produkujúcim IgG, je stále neobjasnený. Predpokladá sa, že autoreaktívne B-bunky nachádzajúce sa v cirkulácii alebo v zápalových léziách sú lepšie prístupné liečbe RTX [6]. To však nemusí platiť pre autoreaktívne pamäťové B-bunky prežívajúce v tkanivách, ktoré ich chránia pred účinkom RTX (kostná dreň, tkanivo orgánov) [7], ako aj pre autoreaktívne dlho žijúce plazmatické bunky, ktoré si dodržiavajú produkciu normálnych IgG [16].

Je možné, že autoreaktívne dlho žijúce plazmatické bunky môžu byť zodpovedné za reaktiváciu produkcie autoprotilátok a následne môžu byť zodpovedné za nekompletnú remisiu lézii pemphigus vulgaris alebo relapsy ochorenia [36].



Obr. 4 • Príp. č. 1 (hmotnosť 66 kg, výška 175 cm) – pri zahájení liečebnej schémy podľa Ahmeda a spol. [32], v kombinácii s dennou dávkou 150 mg cyklosporínu (2,5 mg/kg hmotnosti), 10 mg metylprednisolonu a 50 mg imuranu a s lokálnou liečbou 15-minútovými dezinfekčnými kúpeľmi (manganistan draselný s balneum hermal, resp. oilatum emolient) a následne s aplikovanou kyselinou fusidovou a sterilným polomastným, resp. mastným tylom (Atrauman, Grassolind neutral).



Obr. 5 • Pacientka po absolvovaní liečby, bez klinických prejavov ochorenia a bez lokálnej liečby, ešte na udržiavacej dávke rituximabom 375 mg/m² každé tri mesiace, ako monoterapia.



Obr. 6 • Prípad č. 2 pri zahájení liečby RTX (hmotnosť 50 kg, výška 165 cm) – liečebná schéma podľa Ahmeda a spol. [32], v kombinácii s dennou dávkou 1,5g mykofenolát mofetylu a 16 mg metylprednisolonu a s lokálnou liečbou 15-minútovými dezinfekčnými kúpeľmi (manganistan draselný s balneum hermal, resp. oilatum emolient) a následne s lokálne aplikovanou kyselinou fusidovou a sterilným polomastným, resp. mastným tylom (Atrauman, Grassolind neutral).



Obr. 7 • Pacientka č. 2 s regresiou prejavov pemphigus, liečená s dennou dávkou 500 mg mykofenolát mofetylu v kombinácii s 6 mg metylprednisolonu a s rituximabom 375mg/m² aplikovaným každé 4 týždne a s lokálnou liečbou 15-minútovými dezinfekčnými kúpeľmi (manganistan draselný s balneum hermal, resp. oilatum emolient) a s následne aplikovanou kyselinou fusidovou a sterilným polomastným, resp. mastným tylom (Atrauman, Grassolind neutral).

Literatúra

1. Reff, M.E., Carner, K., Chambers, K.S. et al.: Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994; 83: s. 435 – 445.
2. Stashenko, P., Nadler, L.M., Hardy, R. et al.: Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J Immunol* 1980; 125: s. 1678 – 1685.
3. Maloney, D.G., Liles, T.M., Czerwinski, D.K. et al.: Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994; 84: s. 2457 – 2466.
4. Terstappen, L.W., Johnsen, S., Segers-Nolten, I.M.: Identification and characterization of plasma cells in normal human bone marrow by high-resolution flow cytometry. *Blood* 1990; 76: s. 1739 – 1747.
5. Goodnow, C.C., Cyster, J.G., Hartley, S.B. et al.: Self-tolerance checkpoints in B lymphocyte development. *Adv Immunol* 1995; 59: s. 279 – 369.
6. Schmidt, E., Zilikens, D.: Autoimmune and inherited subepidermal blistering diseases: advances in the clinic and the laboratory. *Adv Dermatol* 2000; 16: s. 113 – 157.
7. Stanley, J.R., Amagai, M.: Pemphigus, bullous impetigo, and the staphylococcal scalded-skin syndrome. *N Engl J Med* 2006; 355: s. 1800 – 1810.
8. Harman, K.E., Albert, S., Black, M.M.: Guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2006; 149: s. 926 – 937.
9. Goebeler, M., Sitaru, C., Zilikens, D.: Bullous autoimmune disorders: therapy. *J Dtsch Dermatol. Ges* 2004; 2: s. 774 – 793.
10. Fatourehchi, M.M., el-Azhary, R.A., Gibson, L.E.: Rituximab: Applications in dermatology. *Int J Dermatol* 2006; 45: s. 1143 – 1155.
11. Kessel, A., Rosner, I., Toubi, E.: Rituximab: beyond simple B cell depletion. *Clin rev Allergy Immunol* 2008; 34: s. 70 – 79.
12. 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: s. 2850 – 2858.
13. Schmidt, E., Brocker, E.-B., Goebeler, M.: Rituximab in treatment-resistant autoimmune blistering skin disorders. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2008; 34: s. 56 – 64.
14. Gurcan, H.M., Keskin, D.B., Stern, J.N.H., Nitzberg, M.A., Shekhani, H., Razzaque Ahmed, A.: A review of the current use of rituximab in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* (2008) doi: 10.1016/j.intimp.2008.10.004
15. Hertl, M., Eming, R., Borradori, L.: Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) – ultimate or first choice on pemphigus? *Dermatology* 2007; 214: s. 275 – 277.
16. Radbruch, A., Muehlinghaus, G., Luger, E.O., Inamine, A., Smith, K.G., Dorner, T., Hiepe, F.: Competence and competition: the challenge of becoming a long – lived plasma cell. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: s. 741 – 750.
17. Quartier, P., Brethon, B., Philippet, P., Landman-Parker, L., Le Deist, F., Fischer, A.: Treatment of childhood autoimmune haemolytic anemia with rituximab. *Lancet* 2001; 357: s. 1511 – 1513.
18. Heinzerling, L.M., Urbanek, M., Funk, J.O.: Reduction of tumor burden and stabilization of disease by systemic therapy with anti-CD20 antibody (rituximab) in patients with primary cutaneous B-cell lymphoma. *Cancer*, 2000; 89: s. 1835 – 1844.
19. Canniga-van Dijk, M.R., van der Straaten, H.M., Fijnheer, R. et al.: Anti-CD20 monoclonal antibody treatment in 6 patients with therapy-refractory chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2004; 104: s. 2603 – 2606.
20. Levine, T.D.: Rituximab in the treatment of dermatomyositis: an open-label pilot study. *Arthritis Rheum* 2005; 52: s. 601 – 607.
21. Stasi, R., Stipa, E., Del Poeta, G. et al.: Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with Rituximab. *Rheumatology* 2008; 45: s. 1432 – 1436.
22. Looney, R.J., Anolik, J.H., Campbell, D. et al.: B-cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004; 50: s. 2580 – 2589.
23. Grimes, P.E.: New insights and new therapies in vitiligo. *JAMA* 2005; 293: s. 730 – 735. Fatourehchi, M.M., el-Azhary, R.A., Gibson, L.E.: Rituximab: Applications in dermatology. *Int J Dermatol* 2006; 45: s. 1143 – 1155.
24. Aklilu, M., Stadler, W.M., Markiewicz, M. et al.: Depletion of normal B-cells with rituximab as an adjuvant to IL-2 therapy for renal cell carcinoma and melanoma. *Ann Oncol* 2004; 15: s. 1109 – 1114.
25. Lugovic, L., Lipozenovic, J., Jakic-Razumovic, J.: Atopic dermatitis: immunophenotyping of inflammatory cells in skin lesions. *Int J Dermatol* 2001; 40: s. 489 – 494.
26. Herbst, A., Bystryń, J.C.: Patterns of remission in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: s. 422 – 427.
27. Lin, M.S., Swartz, S.J., Lopez, A., Ding, X., Fernandez-Vina, M.A., Stastny, P. et al.: Development and characterization of desmoglein 3 specific T cells from patients with pemphigus vulgaris. *J Clin Invest* 1997; 99: s. 31 – 40.
28. Zilikens, D.: Autoimmune bullous diseases. S 641 – 668. In.: Burgdorf WHC, Plewig, G., Wolff, H.H., Landthaler, M.: Braun-Falco's *Dermatology*. 3-rd. ed., Springer, Heidelberg, Germany, 2009, 1712.
29. Antonucci, A., Negosanti, M., Tabanelli, M., Varotti, C.: Treatment of refractory pemphigus vulgaris with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab): Five cases. *J Dermatol. Treatment* 2007; 18: s. 178 – 183.
30. Callen, J.P.: Complications and adverse reactions in the use of newer biologic agents. *Semin Cutan Med Surg* 2007; 26: s. 6 – 14.

31. Zambruno, G., Borradori, L.: Rituximab immunotherapy in pemphigus: Therapeutic effects beyond B-cell depletion. *J Invest dermatol* 2008; 128: s. 2745 – 2747.
32. Ahmed, A.R., Spigelman, Z., Cavacini, L.A., Posner, M.R.: Treatment of pemphigus vulgaris with rituximab and intravenous immune globulin. *N Engl J Med* 2006; 335: s. 1772 – 1779.
33. Joly, P., Mouquet, H., Roujeau, J.C., D’Incan, M., Gilbert, D., Jacquot, S. et al.: A single cycle of rituximab for the treatment of severe pemphigus. *N Engl J Med* 2007; 357: s. 545 – 552.
34. Cianchini, G., Corona, R., Frezzolini, A., Ruffelli, M., Didona, B., Puddu, P.: Treatment of severe pemphigus with rituximab: report of 12 cases and review of the literature. *Arch Dermatol* 2007; 143: s. 1033 – 1038.
35. Schmidt, E., Setz, C.S., Benoit, S., Broecker, E.B., Goebeler, M.: Rituximab in autoimmune bullous diseases: mixed responses and adverse effects. *Br J Dermatol* 2007; 156: s. 352 – 356.
36. Browning, J.L.: B cells move to centre stage: novel opportunities for autoimmune disease treatment. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: s. 564 – 576.