



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANDREIA CRISTINA CRUZ ANDRADE

Glomerulonefrite associada a ANCA – papel do Rituximab

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE NEFROLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR RUI MANUEL BAPTISTA ALVES

DR. EMANUEL FILIPE EUFRÁSIO FERREIRA

ABRIL DE 2021

Glomerulonefrite associada a ANCA – papel do Rituximab
ANCA associated glomerulonephritis – role of Rituximab

Andreia Andrade,¹ Emanuel Ferreira,^{1,2} Rui Alves^{1,2}

¹Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

²Serviço de Nefrologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Contactos:

Email: andreiacandrade00@gmail.com

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Rui Alves e ao Dr. Emanuel Ferreira, por toda a dedicação, disponibilidade e excelente orientação que proporcionaram durante todo o trabalho.

Agradeço à Dr.^a Margarida Marques pela colaboração na análise estatística.

Agradeço à minha família e amigos pelo apoio, companheirismo e transmissão de confiança concedidos durante este processo, em especial ao Guilherme Gil por todo o carinho, incentivo e compreensão que sempre demonstrou.

Índice

Lista de abreviaturas e siglas	5
Resumo.....	6
<i>Abstract</i>	7
Introdução	8
Materiais e Métodos	10
<i>Endpoints</i>	10
Parâmetros utilizados.....	10
Análise estatística.....	11
Resultados	12
Função renal.....	13
Indução de remissão e recidivas	16
Eventos adversos.....	17
Discussão.....	19
Conclusão	21
Referências Bibliográficas	22

Lista de abreviaturas e siglas

ANCA – Anticorpos anticítosplasma de neutrófilos

ANCA-MPO – Anticorpos anti-mieloperoxidase

ANCA-PR3 – Anticorpos anti-proteinase 3

BVAS – *Birmingham vasculitis activity score*

MDRD – *Modification of diet in renal disease*

TFG – Taxa de filtração glomerular

TSFR – Terapêutica substitutiva da função renal

VAA – Vasculite associada a ANCA

Resumo

Introdução: Apesar da eficácia global da terapêutica existente para as vasculites associadas a anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA), tem havido uma procura constante no sentido de reduzir o risco dos seus efeitos secundários. O rituximab tem demonstrado eficácia semelhante ou superior à ciclofosfamida, sem aumento do número total de efeitos adversos. Com este estudo pretende-se comparar o tratamento com rituximab e ciclofosfamida nos doentes com glomerulonefrite associada a ANCA.

Métodos: Realizámos um estudo observacional retrospectivo que incluiu 27 doentes com glomerulonefrite associada a ANCA que receberam tratamento com rituximab ou ciclofosfamida no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra entre 2013 e 2020. O objetivo principal foi comparar a evolução da função renal e necessidade de terapêutica substitutiva da função renal. Avaliámos também a eficácia de indução de remissão e incidência de recidiva e de complicações associadas ao tratamento.

Resultados: A função renal à entrada era semelhante nos dois grupos. Verificou-se menor probabilidade de necessidade de terapêutica substitutiva da função renal (TSFR) no grupo rituximab ($p=0,039$). Nos doentes sem necessidade de TSFR observou-se um aumento da taxa de filtração glomerular semelhante aos 6, 12 e 24 meses (14; 24 e 15 ml/min/1.73m² no grupo rituximab e 11; 16 e 17 ml/min/1.73m² no grupo controlo). Não houve diferença significativa na indução de remissão completa (92% no grupo rituximab vs. 100% no grupo controlo; $p=0,481$) nem na incidência de recidiva: até aos 6 meses ocorreu 1 recidiva no grupo rituximab e após os 6 meses ocorreu 1 recidiva no grupo rituximab e 5 no grupo controlo. A prevalência de eventos adversos aos 6 meses foi de 62% no grupo rituximab e 36% no grupo controlo ($p=0,180$), e aumentou para 73% no grupo rituximab e 67% no grupo controlo aos 24 meses.

Conclusão: Ambas as terapêuticas estiveram associadas a bons resultados em termos de função renal com melhoria da taxa de filtração glomerular, mas com destaque para a menor probabilidade de necessidade de terapêutica substitutiva da função renal a longo prazo no grupo sob rituximab. Não houve diferença na indução de remissão e incidência de recidiva e de eventos adversos.

Palavras-chave: Anticorpos Anticitoplasma de Neutrófilos; Vasculite Associada a ANCA; Glomerulonefrite; Rituximab; Ciclofosfamida.

Abstract

Introduction: Despite the overall effectiveness of the existing therapy for anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis, there has been a constant demand to reduce the risk of its side effects. Rituximab has been shown to have a similar or even better efficiency when compared to cyclophosphamide without increasing the number of adverse events. This study aims to compare the treatment with rituximab and cyclophosphamide in patients with ANCA-associated glomerulonephritis.

Methods: We performed a retrospective, observational cohort study involving 27 patients with ANCA-associated glomerulonephritis that received treatment with rituximab or cyclophosphamide in Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra between 2013 and 2020. The primary endpoint was comparing the renal function evolution and the need for renal replacement therapy. We also analysed the efficiency to induce remission, relapse incidence, and prevalence of treatment complications.

Results: Renal function at the entry was similar in both groups. We observed a lower probability of the need for renal replacement therapy (RRT) in the rituximab group ($p=0,039$). For patients without the requirement of RRT, we noticed a similar increase of glomerular filtration rate at 6, 12 and 24 months (14; 24 and 15 ml/min/1.73m² for the rituximab group and 11; 16 and 17 ml/min/1.73m² for the control groups). There was no significant difference in the induction of complete remission (92% for the rituximab group vs. 100% for the control group; $p=0,481$) neither in the incidence of relapses: until 6 months occur 1 relapse in the rituximab group and after 6 months occur 1 relapse in the rituximab group and 5 in the control group. The prevalence of adverse events at six months was 62% in the rituximab group and 36% in the control group ($p=0,180$) and increases to 73% in the rituximab group and 67% in the control group at 24 months.

Conclusion: Both treatments presented good results regarding kidney function with improved of glomerular filtration rate, however, rituximab showed to have a lower probability of requiring long-term renal replacement therapy. There were no differences in remission induction, relapse incidence and prevalence of adverse events.

Keywords: Antibodies, Antineutrophil Cytoplasmic; ANCA-Associated Vasculitis; Glomerulonephritis; Rituximab; Cyclophosphamide.

Introdução

A vasculite associada a anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (VAA) é uma doença autoimune rara, mais frequente no género masculino e com pico de incidência entre os 60-70 anos.¹ Afeta maioritariamente vasos de pequeno calibre e é classificada em granulomatose com poliangeíte, granulomatose eosinofílica com poliangeíte ou poliangeíte microscópica, de acordo com a apresentação clínico-patológica.²

A VAA associa-se geralmente à presença de anticorpos circulantes anti-mieloperoxidase (ANCA-MPO) ou anti-proteinase 3 (ANCA-PR3), antígenos presentes nos grânulos citoplasmáticos dos neutrófilos e lisossomas dos monócitos.¹

Estes anticorpos estão implicados na fisiopatologia da VAA porque causam hiper-ativação dos neutrófilos e subsequente libertação de citocinas pró-inflamatórias, radicais livres de oxigénio e enzimas líticas, que induzem lesão das células endoteliais¹. Existe também lesão endotelial pela formação de redes extracelulares de neutrófilos, pela ativação do complemento e recrutamento de linfócitos T CD4+ auto-reativos.³⁻⁵

O espectro de manifestações clínicas é muito variado pelo carácter sistémico da doença, com destaque para o envolvimento renal e do trato respiratório. Sintomas constitucionais como febre, mialgias, astenia ou perda de peso são frequentes.^{1,6} O envolvimento renal ocorre em mais de 75% dos casos e manifesta-se na forma de uma glomerulonefrite crescêntica e necrotizante *pauci-imune*, que cursa com rápida deterioração da função renal em dias a meses associado à presença de síndrome nefrítico.²

O tratamento da VAA envolve duas fases: tratamento de indução, que deve ser iniciado precocemente com o objetivo de alcançar a remissão e tratamento de manutenção com o objetivo de diminuir o risco de recidiva da doença.

Durante muitos anos a ciclofosfamida associada a altas doses de corticoides constituiu a base da terapêutica de indução das VAA. Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de encontrar estratégias terapêuticas com melhor perfil de efeitos secundários e menor número de recidivas, de modo a reduzir a morbimortalidade associadas à doença e ao tratamento.⁷⁻¹²

Em 2011 o rituximab, um anticorpo monoclonal quimérico anti-CD20 que provoca depleção de linfócitos B¹³, foi aprovado pela *united states food and drug administration* (USFDA) para o tratamento das VAA.¹⁴ Desde então tem demonstrado eficácia semelhante ou superior à ciclofosfamida na indução de remissão^{11,12,14-18} e menor risco de recidiva comparativamente à azatioprina,¹⁹⁻²² sem aumento do número total de efeitos adversos.

Na indução de remissão o rituximab pode ser administrado segundo dois esquemas diferentes: infusão intravenosa semanal de 375 mg/m² até perfazer 4 infusões ou duas

infusões intravenosas quinzenais de 1 g. O esquema de manutenção consiste na infusão intravenosa de 500 mg semestralmente durante 18 meses ou quando se verifica reconstituição imunológica.²³

Os efeitos adversos intrínsecos à terapêutica com rituximab incluem reações à infusão, nomeadamente reações de hipersensibilidade e síndrome de libertação de citocinas; neutropenia, risco de infeção grave e possibilidade de reativação da hepatite B.²⁴ Assim, recomenda-se realizar rastreio de hepatite B antes de iniciar o tratamento, monitorizar os níveis de leucócitos previamente a cada infusão e realizar profilaxia da pneumonia por *pneumocystis jirovecii* com sulfametoxazol/trimetoprim.²³

Tendo em consideração a crescente utilização de rituximab nas VAA, realizámos um estudo observacional retrospectivo que pretende comparar a terapêutica com rituximab e ciclofosfamida em doentes com glomerulonefrite associada a ANCA. O objetivo foi comparar a eficácia do tratamento e complicações associadas ao mesmo.

Materiais e Métodos

Após aprovação pela comissão de ética, realizou-se um estudo observacional retrospectivo, que incluiu 27 doentes com Glomerulonefrite associada aos ANCA tratados no Serviço de Nefrologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra entre 1/4//2013 e 1/2/2020, todos com idade superior a 18 anos. Todos os doentes assinaram um consentimento informado.

O grupo rituximab foi composto por 13 doentes que receberam tratamento de indução com rituximab intravenoso e o grupo controlo foi composto por 14 doentes que receberam tratamento de indução com ciclofosfamida intravenosa. Visto que, o tratamento com rituximab necessita de aprovação hospitalar, dificultando a sua administração imediata, a maioria dos doentes incluídos no grupo em estudo receberam 1 a 3 infusões prévias de ciclofosfamida. Ambos os grupos incluíram doentes que realizaram plasmaferese e hemodiálise à entrada.

O rituximab foi administrado a 4 doentes no esquema de 375 mg/m² de área de superfície corporal semanalmente durante 4 semanas e a 9 doentes no esquema de 1 g em duas administrações quinzenais. A ciclofosfamida foi administrada a todos os doentes na dose de 15 mg/Kg a cada 2-3 semanas, com ajuste da dose à idade, função renal e contagem de leucócitos. Todos os doentes receberam pulsos de 500-1000 mg de metilprednisolona, substituídos posteriormente por prednisolona oral. Todos os doentes realizaram profilaxia com sulfametoxazol/trimetoprim.

No grupo rituximab 6 doentes realizaram tratamento de manutenção com rituximab em esquema de infusão intravenosa semestral de 500 mg, 3 realizaram azatioprina e corticoide, 3 realizaram apenas corticoterapia oral e 1 não realizou terapêutica de manutenção por diagnóstico de tuberculose ativa. No grupo controlo 11 doentes realizaram tratamento de manutenção com azatioprina e corticoide e 3 corticoterapia isolada.

Endpoints

O *endpoint* primário do estudo foi avaliar a evolução da função renal e a necessidade de terapêutica substitutiva da função renal. Como *endpoints* secundários foram considerados: indução de remissão completa e parcial, incidência de recidiva *major* e *minor* e incidência de eventos adversos, nomeadamente a ocorrência de morte, infeção grave, neoplasia, leucopenia, necessidade de internamento e reação à infusão.

Parâmetros utilizados

A atividade da doença foi calculada pelo *birmingham vasculitis activity score version 3* (BVAS v3). Definiu-se remissão completa quando valor de BVAS=0 aos 6 meses e remissão parcial quando valor de BVAS \geq 1 aos 6 meses e inferior ao valor inicial. Considerou-se como recidiva

o aparecimento ou agravamento de sinais/sintomas de atividade da doença após um período de remissão parcial ou completa, classificando-se em *major* quando ameaçadora de órgão ou da vida.

As biópsias renais foram classificadas em focal, se $\geq 50\%$ dos glomérulos normais; crescêntica, se $\geq 50\%$ dos glomérulos com crescentes celulares; esclerosante, se $\geq 50\%$ dos glomérulos escleróticos e mista, se nenhum padrão atingia 50% dos glomérulos.²⁵

Foram classificadas como infecções graves todas as infecções que necessitaram de internamento ou de tratamento intravenoso. Considerou-se reação grave à infusão as reações que impossibilitaram nova administração. Apenas foram contabilizados os internamentos referentes a complicações da doença ou do tratamento. Considerou-se leucopenia quando a contagem de leucócitos $< 4000/\text{mm}^3$, hematúria quando presença de ≥ 10 eritrócitos por campo e proteinúria quando ≥ 30 mg/dL de proteínas numa amostra de urina. A taxa de filtração glomerular foi calculada pela fórmula *modification of diet in renal disease* (MDRD).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada no *software statistical package for the social sciences* (SPSS) versão 22 e considerou-se o nível de significância de 5% para todos os testes.

As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio padrão ou pela mediana, quartil 25 e 75. Utilizou-se o teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade das variáveis quantitativas. Para comparar duas amostras independentes com distribuição normal utilizou-se o teste T Student ou o teste de Welch e quando a distribuição não era normal usou-se o teste U de Mann-Whitney.

As variáveis qualitativas foram descritas pela frequência absoluta e relativa. Utilizou-se o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher para comparar amostras independentes.

Realizou-se análise de sobrevivência de Kaplan-Meier para os endpoints primário e secundários e teste log-rank para comparar as curvas de sobrevivência.

Resultados

Foram incluídos 27 doentes no estudo, 13 no grupo rituximab e 14 no grupo controlo. As características basais dos dois grupos encontram-se na tabela 1.

A idade média de início dos sintomas foi de 62,9 anos no grupo rituximab e 61,7 anos no grupo controlo. O grupo controlo apresentava uma percentagem maior de doentes do género masculino ($p=0,046$). O grupo rituximab apresentava um grau de atividade da doença mais elevado tendo em consideração o score BVAS à entrada (mediana de 21 vs. 14; $p=0,014$). O envolvimento neurológico foi mais frequente no grupo rituximab (39% vs. 7%; $p=0,077$).

O grupo rituximab incluiu 6 doentes (46%) com manifestações prévias de vasculite sistémica, 4 dos quais haviam recebido tratamento de indução com ciclofosfamida e 2 com micofenolato de mofetilo. Nesses doentes o diagnóstico de VAA ocorreu, em média, 6,4 anos antes (mínimo de 18 meses; máximo 17 anos). O grupo controlo apenas incluiu doentes com diagnóstico inaugural de VAA ($p=0,041$).

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao padrão ANCA, achados da biópsia renal, envolvimento renal e terapêutica com plasmaferese.

O tempo médio de seguimento foi de 18,2 meses no grupo rituximab e 23,3 meses no grupo controlo. Todos os doentes concluíram 6 meses de tratamento e apenas 2 não concluíram 12 meses de tratamento por terem falecido previamente. Não houve perdas de *follow up* em nenhum dos grupos, mas 7 doentes no grupo rituximab e 2 no grupo controlo não completaram 24 meses de seguimento à data da conclusão do estudo.

Tabela 1. Características basais dos grupos em estudo.

	Controlo (n=14)	Rituximab (n=13)	Valor p
Idade (anos) – M±dp	61,7±18,3	62,9±13,5	NS
Género – n (%)			0,046
Feminino	2 (14%)	7 (54%)	
Masculino	12 (86%)	6 (46%)	
Raça Caucasiana – n (%)	14 (100%)	13 (100%)	
BVAS – Med (IQ)	14 (12-20)	21 (18-24)	0,014
Subtipo ANCA por Elisa – n (%)			NS
Mieloperoxidase	12 (85,7%)	9 (70%)	
Proteinase 3	2 (14,3%)	4 (31%)	
Subtipo ANCA por Imunofluorescência – n (%)			NS
Perinuclear	12 (86%)	8 (62%)	
Citoplasmático	2 (14%)	5 (38%)	

Diagnóstico de novo – n (%)	14 (100%)	7 (54%)	0,006
Duração da doença até entrada no estudo nos doentes com recidivas (anos) – M±dp	0	6,4±5,4	0,043
Tratamento prévio ao estudo com ciclofosfamida – n (%)	0	4 (31%)	0,041
Envolvimento de órgãos – n (%)			
Sintomas constitucionais	12 (86%)	10 (77%)	NS
Envolvimento pulmonar	4 (29%)	7 (54%)	NS
Envolvimento neurológico	1 (7%)	5 (39%)	0,077
Envolvimento mucosas	2 (14%)	3 (23%)	NS
Envolvimento via respiratória superior	0	3 (23%)	NS
Envolvimento cutâneo	3 (21%)	0	NS
Envolvimento musculo esquelético	0	0	
Envolvimento gastrointestinal	0	0	
Envolvimento cardiovascular	0	0	
Envolvimento renal			
Necessidade de diálise à entrada – n (%)	4 (29%)	3 (23%)	NS
Creatinina (mg/dL) – M±dp	6,4±3,3	5,3±3,5	NS
Creatinina > 5,65 mg/dL – n (%)	7 (50%)	6 (46%)	NS
Hematuria – n (%)	13 (93%)	10 (77%)	NS
Proteinúria – n (%)	14 (100%)	11 (85%)	NS
Biópsia renal– n (%)			
Focal	0	2 (15%)	
Crescêntica	3 (21%)	4 (31%)	
Mista	2 (14%)	2 (15%)	
Esclerosante	1 (7%)	2 (15%)	
Não realizada	8 (57%)	3 (23%)	
Tratamento implementado			
Plasmaferese – n (%)	6 (43%)	4 (31%)	NS
Dose cumulativa de Ciclofosfamida desde o início do estudo (g) – M±dp	6,7±3,0	1,2±0,9	0,000

ANCA– anticorpos anticitoplasma de neutrófilos; BVAS– *birmingham vasculitis activity score*; dp– desvio padrão; g– grama; IQ– intervalo interquartil; M– média; Med– mediana; n– frequência absoluta

Função renal

Três doentes (23%) do grupo rituximab e 4 (29%) do grupo controlo necessitaram de realizar hemodiálise à entrada no estudo. Os 3 doentes do grupo rituximab e 2 (50%) do grupo controlo apresentaram recuperação parcial da função renal que permitiu a suspensão da hemodiálise ($p=0,429$). O tempo em média até à suspensão da hemodiálise foi 4,2 meses no grupo rituximab (mínimo 12 dias e máximo 9,7 meses) e 2,8 meses no grupo controlo (mínimo de 7

semanas e máximo de 4,1 meses). Os 2 doentes do grupo controlo que suspenderam temporariamente hemodiálise reiniciaram terapêutica substitutiva da função renal (TSFR) 16 e 30 meses após a suspensão. Nenhum doente do grupo rituximab que realizou hemodiálise à entrada necessitou de reiniciar TSFR após a sua suspensão (*follow up* de 12; 29 e 36 meses após suspensão de hemodiálise).

Aos 6 meses de seguimento, necessitavam de TSFR 2 doentes do grupo rituximab (15%), um com início à entrada no estudo e outro aos 5,7 meses; e 2 doentes do grupo controlo (14%), ambos com início à entrada no estudo ($p=1,00$) – tabela 2. Entre os 6 e os 24 meses, 4 doentes do grupo controlo iniciaram TSFR, em média aos 15,3 meses. Nenhum doente do grupo rituximab iniciou TSFR neste período.

O grupo rituximab apresentou menor probabilidade de necessidade de TSFR ao longo do tempo de seguimento de 36 meses ($p=0,039$) – fig. 1A.

Tabela 2. Evolução da função renal - taxa de filtração glomerular e necessidade de terapêutica substitutiva da função renal à entrada e aos 6, 12 e 24 meses.

	N	Controlo	N	Rituximab	Valor p
TFG inicial (ml/min/1.73m ²)	14	12,2 (7-17)	13	11,1 (7-17)	NS
TFG 6M (ml/min/1.73m ²)	12†	23,1 (14-33)	11†	25,0 (20-63)	NS
TFG 12M (ml/min/1.73m ²)	10†	28,6 (18-41)	11*	34,8 (19-59)	NS
TFG 24M (ml/min/1.73m ²)	6*	29,4 (13-45)	6*	25,6 (14-52)	NS
TSFR 6M	14	2 (14%)	13	2 (15%)	NS
TSFR 12M	14	4 (29%)	11*	0	NS
TSFR 24M	12*	6 (55%)	6*	0	0,054

TFG– Taxa de filtração glomerular; TSFR– terapêutica substitutiva da função renal; M– meses; N– número de doentes incluídos na análise estatística em cada variável. NS– não significativo.

A TFG, calculada pela fórmula MDRD, está descrita pela mediana e intervalo interquartil e a TSFR pela frequência absoluta e relativa cumulativa.

*Excluíram-se os doentes que não completaram os 12 ou 24 meses de seguimento.

†Excluíram-se os doentes em TSFR.

Nos doentes sem necessidade de TSFR não houve diferenças estatisticamente significativas na evolução da taxa de filtração glomerular (TFG). Em ambos os grupos, observou-se um aumento na mediana da TFG aos 6 e 12 meses comparativamente à mediana da TFG inicial (13,9 e 23,7 ml/min/1,73m² no grupo rituximab; e 10,9 e 16,4 ml/min/1,73m² no grupo controlo). Entre os 12 e os 24 meses, o grupo rituximab teve um decréscimo na mediana da TFG, mas manteve um aumento comparativamente à mediana da TFG inicial de 14,5 ml/min/1,73m², enquanto o grupo controlo manteve o aumento de 17,2 ml/min/1.73m².

Não se identificaram diferenças estatisticamente significativas quanto à presença de hematúria ou proteinúria aos 6, 12 e 24 meses.

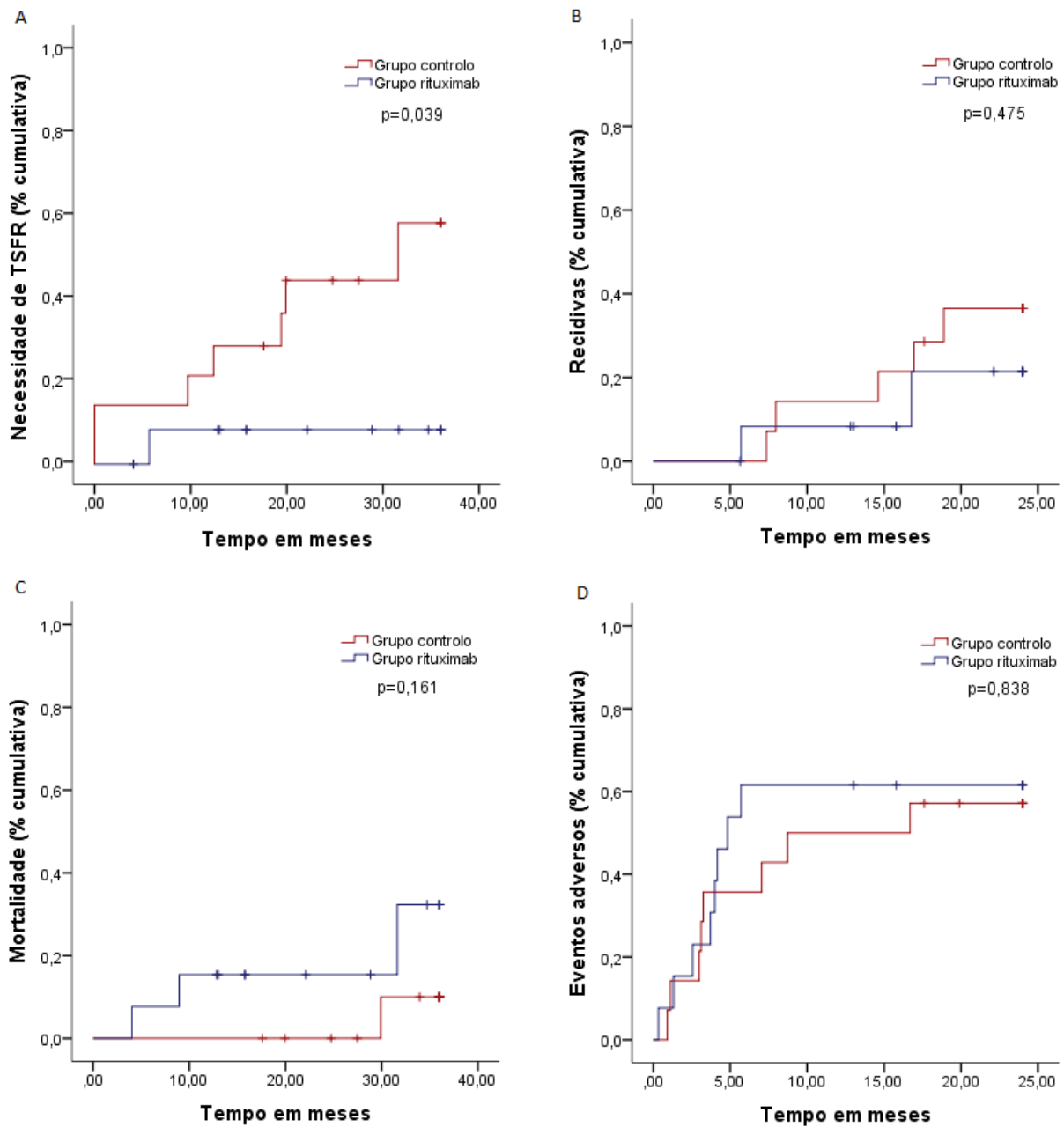


Figura 1. Curvas de Kaplan-meier referentes à terapêutica substitutiva da função renal (TSFR), recidivas, mortalidade e eventos adversos. 1A: Tempo até início de TSFR; 1B: Tempo até ocorrer recidiva; 1C: Tempo até ocorrer morte; 1D: Tempo até ocorrer o primeiro evento adversos. + Doente censurado por não completar tempo total de seguimento ou por ocorrência de morte.

Indução de remissão e recidivas

Não houve diferença estatisticamente significativa na indução de remissão nem no número de recidivas (fig. 1B). Ambos os grupos obtiveram uma elevada taxa de remissão completa (92% no grupo rituximab e 100% no grupo controlo; $p=0,481$); apenas 1 doente do grupo rituximab (8%) alcançou remissão parcial – tabela 3. A percentagem de doentes com títulos ANCA negativos aos 6 meses foi semelhante (39% no grupo rituximab e 39% no grupo controlo; $p=1,00$).

Tabela 3. Evolução do *birmingham vasculitis activity score* (BVAS).

	Controlo				Rituximab				Valor p
	N	Med (Q)	Min	Max	N	Med (Q)	Min	Max	
BVAS inicial	14	14 (12-20)	12	26	13	21 (18-24)	14	29	0,014
BVAS 6M	14	0 (0-0)	0	0	13	0 (0-0)	0	18	NS
BVAS 12M	14	0 (0-0)	0	16	11*	0 (0-0)	0	0	NS
BVAS 24M	12*	0 (0-2)	0	6	6*	0 (0-0)	0	2	NS

M– meses; N– número de doentes incluídos na análise estatística em cada intervalo temporal.
NS– não significativo.

*Excluíram-se os doentes que não completaram os 12 ou 24 meses de seguimento.

Até aos 6 meses ocorreu apenas uma recidiva *major* no grupo rituximab (8%; $p=0,481$), com envolvimento renal e pulmonar, que resultou na necessidade de TSFR – tabela 4. Após os 6 meses ocorreu apenas uma recidiva *minor* no grupo rituximab e 5 recidivas no grupo controlo (3 *minor* e 2 *major*: um doente apresentou envolvimento otológico, neurológico e renal aos 8 meses de seguimento e o outro doente apresentou envolvimento renal aos 19 meses de seguimento com necessidade de TSFR).

Tabela 4. Ocorrência de recidivas.

	Intervalo temporal	Controlo		Rituximab		Valor p
		N	n (%)	N	n (%)	
Recidiva <i>major</i>	0-6M	14	0	13	1 (8%)	NS
	6-12M	14	1 (7%)	11*	0	NS
	12-24M	12*	1 (8%)	6*	0	NS
Recidiva <i>minor</i>	0-6M	14	0	13	0	NS
	6-12M	14	1 (7%)	11*	0	NS
	12-24M	12*	2 (17%)	6*	1 (17%)	NS

M– meses; N– número de doentes incluídos na análise estatística em cada intervalo temporal.
As recidivas estão descritas pela frequência absoluta e relativa de recidivas ocorridas em cada intervalo temporal.

*Excluíram-se os doentes que não completaram os 12 ou 24 meses de seguimento.

Em todas as recidivas os títulos ANCA estavam positivos; 5 doentes nunca alcançaram títulos negativos e 2 positivaram no momento da recidiva. Ocorreram mais recidivas nos doentes ANCA-MPO (29% vs. 17%; $p=1,00$). Apenas um (17%) dos 6 doentes com doença prévia à entrada no estudo desenvolveu recidiva *minor* aos 17 meses.

Eventos adversos

Não se verificou diferença estatisticamente significativa na mortalidade aos 6, 12 e 24 meses (tabela 5 e fig. 1C). Até aos 12 meses faleceram 2 doentes do grupo rituximab, aos 6 e 9 meses, ambos por infeções graves - pneumonia por *pseudomonas aeruginosa* associada a leucopenia e pneumonia por citomegalovírus. Não se registou mortalidade no período entre os 12 e os 24 meses em ambos os grupos.

Também não houve diferença estatisticamente significativa para nenhum dos eventos adversos aos 6, 12 e 24 meses de seguimento – tabela 5 e fig. 1D. No entanto, aos 6 meses de seguimento registou-se a tendência para uma maior percentagem de eventos adversos (62% vs. 36%; $p=0,180$), infeções graves (54% vs. 21%; $p=0,120$) e internamentos hospitalares (54% vs. 21%; $p=0,120$) no grupo rituximab. Apenas a leucopenia foi mais frequente no grupo controlo (36% vs. 23%; $p=0,678$). Nenhum doente desenvolveu reação grave à infusão nem houve evidência de neoplasias até aos 6 meses.

Tabela 5. Eventos adversos ocorridos durante seguimento de 24 meses.

	N	Controlo n (%)	N	Rituximab n (%)	Valor p
Eventos adversos 6M	14	5 (36%)	13	8 (62%)	NS
Eventos adversos 24M	12*	8 (67%)	11*	8 (73%)	NS
Mortalidade 6M	14	0	13	1 (8%)	NS
Mortalidade 24M	12*	0	8*	2 (25%)	NS
Internamentos 6M	14	3 (21%)	13	7 (54%)	NS
Internamentos 24M	12*	6 (50%)	10*	7 (70%)	NS
Infeções 6M	14	3 (21%)	13	7 (54%)	NS
Infeções 24M	12*	5 (42%)	10*	7 (70%)	NS
Leucopenia 6M	14	5 (36%)	13	3 (23%)	NS
Leucopenia 24M	12*	7 (58%)	8*	3 (38%)	NS
Neoplasia 24M	12*	2 (17%)	6*	1 (17%)	NS

M– meses; N– número de doentes incluídos na análise estatística em cada variável; NS– não significativo; n (%) – frequência absoluta e relativa cumulativa de doentes que desenvolveram o evento analisado.

*Excluíram-se os doentes que não desenvolveram o evento em análise quando não completaram 24 meses de seguimento.

Após os 6 meses, a percentagem de doentes que desenvolveu pelo menos um evento adverso aumentou para 67% no grupo controlo e 73% no grupo rituximab ($p=1,00$). Três doentes desenvolveram neoplasias: no grupo rituximab foi identificada uma recidiva óssea de neoplasia mamária e no grupo controlo um doente desenvolveu neoplasia mamária e outro carcinoma espinhocelular do lábio. Nenhum destes doentes recebeu tratamento imunossupressor previamente à inclusão no estudo.

Ambos os grupos tiveram doentes que não desenvolveram eventos adversos: 5 doentes no grupo rituximab (2 não completaram 24 meses de seguimento) e 6 doentes no grupo controlo (2 não completaram 24 meses de seguimento).

Discussão

Apesar da eficácia global da terapêutica existente para as VAA, tem havido uma procura constante no sentido de reduzir o risco dos seus efeitos secundários. No presente estudo confirmámos os bons resultados em termos de envolvimento renal e taxas de remissão da doença, mas mantendo um número elevado de eventos adversos associados.

O dado mais relevante do nosso estudo foi a elevada taxa de recuperação da função renal em doentes com necessidade de hemodiálise à entrada - 100% no grupo rituximab e 50% no grupo controlo. Os doentes do grupo controlo retomaram hemodiálise ao fim de vários meses, mas os doentes do grupo rituximab mantiveram-se sem necessidade de hemodiálise durante o período de *follow up*. De destacar ainda 1 doente do grupo rituximab que recuperou função renal após 9 meses em hemodiálise. Estes dados realçam a importância da instituição de tratamento independentemente da função renal à entrada.

Outro aspeto que devemos realçar foi a superioridade do rituximab comparativamente à ciclofosfamida no risco de realizar TSFR a longo prazo. Apesar de não existirem diferenças estatisticamente significativas no envolvimento renal à entrada, os doentes do grupo rituximab apresentaram menor necessidade de terapêutica substitutiva da função renal a longo prazo ($p=0,039$).

Constatámos também um aumento progressivo da mediana da TFG estimada em ambos os grupos – 13,9 e 23,7 mL/min/1.73m² no grupo rituximab vs. 10,9 e 16,4 mL/min/1.73m² no grupo controlo, aos 6 e 12 meses respetivamente. Resultados sobreponíveis aos descritos na literatura - estudo RAVE¹²: 11,2 mL/min/1.73m² no grupo rituximab e 10,5 mL/min/1.73m² no grupo controlo aos 6 meses; RITUXVAS¹¹: 19 mL/min/1.73m² no grupo rituximab e 15 mL/min/1.73m² no grupo controlo aos 12 meses.

O tratamento com rituximab não foi inferior à ciclofosfamida na indução e manutenção de remissão completa (92% vs. 100%), apesar do grau de atividade da doença mais elevado no grupo rituximab. A taxa de remissão completa foi semelhante à do estudo RITUXVAS¹¹ (91% em ambos os grupos), mas superior à observada no estudo RAVE¹² (64% vs. 53%). Também se constatou uma elevada prevalência de remissão nos doentes com doença prévia à inclusão no estudo, semelhante à observada no estudo RITAZAREM¹⁷ (90%).

Em consonância com a literatura,¹ obtivemos uma taxa de recidivas de 26%, que ocorreram sobretudo após os 6 meses de tratamento. Todos os casos ocorreram em doentes com títulos ANCA positivos, sendo que 29% se manifestaram após alteração dos títulos ANCA de negativos para positivos. Sabe-se que os títulos ANCA positivos não se correlacionam totalmente com a atividade da doença, nomeadamente com a ocorrência de recidivas, mas

existe menor risco de recidiva nos doentes que alcançaram títulos ANCA negativos após tratamento de indução.^{24–28}

Apesar de estar descrito um maior risco de recidiva na doença ANCA-PR3 e nos doentes com história de recidivas prévias,^{15,23,26,27,29} no nosso estudo houve maior prevalência de recidivas na doença ANCA-MPO (29% vs. 17%) e apenas 1 dos 6 doentes que se manifestou como recidiva de VAA apresentou recidiva durante o nosso seguimento – recidiva *minor*.

Não se verificou diferença estatisticamente significativa na mortalidade nem nos eventos adversos entre os dois grupos. No entanto, o grupo rituximab apresentou maior mortalidade e maior prevalência de eventos adversos com destaque para as infeções graves e internamentos referentes a complicações da doença ou do tratamento. A taxa de eventos adversos foi também superior à descrita na literatura,^{11,12} facto que pode ser justificado pelas características basais da nossa população: elevada média de idades, elevado grau de atividade da doença calculado pelo *score* BVAS e reduzida taxa de filtração glomerular à admissão, fatores que estão associados a maior risco de mortalidade.^{31,32} Sabe-se também que a mortalidade é mais elevada no primeiro ano de tratamento, sendo a principal causa de morte atribuída a infeções ou vasculite ativa,^{31,32} tal como se constatou no nosso grupo de doentes.

Não verificámos diferença significativa relativamente ao desenvolvimento de neoplasias. O reduzido período de seguimento e a baixa dose cumulativa de ciclofosfamida (média de 6,7g) provavelmente contribuíram para estes resultados.

O nosso estudo apresenta algumas limitações. A mais importante é o facto de ser um estudo observacional, retrospectivo, não randomizado e unicêntrico, limitando a extrapolação dos dados para outras populações. O reduzido tamanho da amostra e curto período de *follow up*, sobretudo no grupo rituximab, limitam também a perceção dos riscos e benefícios da terapêutica. No entanto, a VAA é uma doença rara e o rituximab é um fármaco com poucos anos de utilização nesta patologia, aspetos que justificam esta limitação. Por outro lado, incluímos doentes com idade avançada, elevado *score* de atividade da doença e grave disfunção renal à entrada, permitindo avaliar os resultados terapêuticos numa população com vários fatores de mau prognóstico.

Serão necessários estudos prospetivos, randomizados e multicêntricos que incluam doentes com fatores de mau prognóstico como a necessidade de TSFR à entrada para confirmar os resultados do nosso trabalho.

Conclusão

O nosso trabalho reafirma a eficácia da terapêutica existente para as vasculites associadas a ANCA apesar do risco de eventos adversos associado.

Ambas as terapêuticas estiveram associadas a bons resultados em termos de função renal com melhoria da taxa de filtração glomerular, mas com destaque para a menor probabilidade de necessidade de terapêutica substitutiva da função renal a longo prazo no grupo sob rituximab. Para além disso, o tratamento com rituximab demonstrou ser tão eficaz como a ciclofosfamida na indução de remissão, sem diferença na incidência de recidiva e de eventos adversos.

Referências Bibliográficas

1. Geetha D, Jefferson JA. ANCA-Associated Vasculitis: Core Curriculum 2020. *Am J Kidney Dis.* 2020;75(1):124–37.
2. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013;65(1):1–11.
3. Nakazawa D, Masuda S, Tomaru U, Ishizu A. Pathogenesis and therapeutic interventions for ANCA-associated vasculitis. *Nat Rev Rheumatol.* 2019;15(2):91–101.
4. Brilland B, Garnier AS, Chevaller A, Jeannin P, Subra JF, Augusto JF. Complement alternative pathway in ANCA-associated vasculitis: Two decades from bench to bedside. *Autoimmun Rev.* 2019;19(1):102424.
5. Kronbichler A, Lee KH, Denicol S, Choi D, Lee H, Ahn D, et al. Immunopathogenesis of ANCA-Associated Vasculitis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7319.
6. Johnson RJ, Feehally J, Floege J, Tonelli M. *Comprehensive Clinical Nephrology.* 6th ed. Elsevier; 2018.
7. Walsh M, Merkel PA, Peh C-A, Szpirt WM, Puéchal X, Fujimoto S, et al. Plasma Exchange and Glucocorticoids in Severe ANCA-Associated Vasculitis. *N Engl J Med.* 2020;382(7):622–31.
8. Merkel PA, Niles J, Jimenez R, Spiera RF, Rovin BH, Bomback A, et al. Adjunctive Treatment With Avacopan, an Oral C5a Receptor Inhibitor, in Patients With Antineutrophil Cytoplasmic Antibody–Associated Vasculitis. *Am Coll Rheumatol.* 2020;2(11):662–71.
9. Tesar V, Hruskova Z. Avacopan in the treatment of ANCA-associated vasculitis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018;27(5):491–6.
10. Furuta S, Sugiyama T, Umibe T, Kaneko Y, Amano K, Kurasawa K, et al. Low-dose glucocorticoids plus rituximab versus high-dose glucocorticoids plus rituximab for remission induction in ANCA-associated vasculitis (LoVAS): protocol for a multicentre , open-label , randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2017;7(12): e018748.
11. Jones RB, Cohen Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, et al. Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-Associated Renal Vasculitis. *N Engl J Med.* 2010;363(3):211–20.
12. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, et al. Rituximab

- versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med.* 2010;17(4):168.
13. Reff M, Carner K, Chambers K, Chinn P, Leonard JE, Raab R, et al. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood.* 1994;83(2):435–45.
 14. Hassan RI, Gaffo AL. Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis. *Curr Rheumatol Rep.* 2017;19(6).
 15. Specks U, Merkel PA, Seo P, Spiera R, Langford CA, Hoffman GS, et al. Efficacy of Remission-Induction Regimens for ANCA-Associated Vasculitis. *N Engl J Med.* 2013;369(5):417–27.
 16. Jones RB, Furuta S, Tervaert JWC, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, et al. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis: 2-year results of a randomised trial. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(6):1178–82.
 17. Smith RM, Jones RB, Specks U, Bond S, Nodale M, Aljayyousi R, et al. Rituximab as therapy to induce remission after relapse in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(9):1243–9.
 18. Geetha D, Specks U, Stone JH, Merkel PA, Seo P, Spiera R, et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis with renal involvement. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(4):976–85.
 19. Terrier B, Pagnoux C, Perrodeau É, Karras A, Khouatra C, Aumaître O, et al. Long-term efficacy of remission-maintenance regimens for ANCA-associated vasculitides. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(8):1151–7.
 20. Guillevin L, Pagnoux C, Karras A, Khouatra C, Aumaître O, Cohen P, et al. Rituximab versus Azathioprine for Maintenance in ANCA-Associated Vasculitis. *N Engl J Med.* 2014;371(19):1771–80.
 21. Charles P, Terrier B, Perrodeau É, Cohen P, Faguer S, Huart A, et al. Comparison of individually tailored versus fixed-schedule rituximab regimen to maintain ANCA-associated vasculitis remission: Results of a multicentre, randomised controlled, phase III trial (MAINRITSAN2). *Ann Rheum Dis.* 2018;77(8):1144–50.
 22. Smith R, Jayne D, Merkel PA. A randomized, controlled trial of rituximab versus azathioprine after induction of remission with rituximab for patients with anca-associated vasculitis and relapsing disease. *Ann Rheum Dis.* 2020;79:19–20.

23. Eknoyan G, Lameire N, Wheeler DC, Jadoul M, Winkelmayer W, Arici M, et al. Kdigo Clinical Practice Guideline on Glomerular Diseases. 2020. p. 251–74.
24. Jefferson JA. Complications of Immunosuppression in Glomerular Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(8):1264–75.
25. Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, Jayne DR, Jennette JC, Joh K, et al. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:1628–36.
26. McClure ME, Wason J, Gopaluni S, Tieu J, Smith RM, Jayne DR, et al. Evaluation of PR3-ANCA Status After Rituximab for ANCA-Associated Vasculitis. *J Clin Rheumatol*. 2019;25(5):217–23.
27. Pagnoux C, Hogan SL, Chin H, Jennette JC, Falk RJ, Guillevin L, et al. Predictors of treatment resistance and relapse in antineutrophil cytoplasmic antibody - Associated small-vessel vasculitis: Comparison of two independent cohorts. *Arthritis Rheum*. 2008;58(9):2908–18.
28. Sanders JSF, Huitma MG, Kallenberg CGM, Stegeman CA. Prediction of relapses in PR3-ANCA-associated vasculitis by assessing responses of ANCA titres to treatment. *Rheumatology*. 2006;45(6):724–9.
29. Tomasson G, Grayson PC, Mahr AD, Lavalley M, Merkel PA. Value of ANCA measurements during remission to predict a relapse of ANCA-associated vasculitis—a meta-analysis. *Rheumatol*. 2012;51(1):100–9.
30. Walsh M, Flossmann O, Berden A, Westman K, Höglund P, Stegeman C, et al. Risk factors for relapse of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(2):542–8.
31. Heijl C, Mohammad AJ, Westman K, Höglund P. Long-term patient survival in a Swedish population-based cohort of patients with ANCA-associated vasculitis. *Rheum Musculoskelet Dis*. 2017;3:e000435.
32. Flossmann O, Berden A, De Groot K, Hagen C, Harper L, Heijl C, et al. Long-term patient survival in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):488–94.