

U. PORTO

FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2019/2020

José Miguel Alves Ribeiro

Rituximab na terapêutica da nefropatia membranosa

Rituximab in the treatment of membranous nephropathy

Abril, 2020

FMUP

José Miguel Alves Ribeiro

Rituximab na terapêutica da nefropatia membranosa

Rituximab in the treatment of membranous nephropathy

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Nefrologia

Tipologia: Monografia

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Professor Doutor Manuel Pestana**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Arquivos de Medicina**

Abril, 2020

FMUP

Eu, José Miguel Alves Ribeiro, abaixo assinado, nº mecanográfico 201305703, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 15/04/2020

Assinatura conforme cartão de identificação:

José Miguel Alves Ribeiro

NOME

José Miguel Alves Ribeiro

NÚMERO DE ESTUDANTE

201305703

E-MAIL

up201305703@med.up.pt

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Nefrologia

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Rituximab na terapêutica da nefropatia membranosa

ORIENTADOR

Professor Doutor Manuel Pestana

COORIENTADOR (se aplicável)

ASSINALE APENAS UMA DAS OPÇÕES:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES TRABALHOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input checked="" type="checkbox"/>
É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTES TRABALHOS (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input type="checkbox"/>
DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTES TRABALHOS.	<input type="checkbox"/>

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 15/04/2020

Assinatura conforme cartão de identificação: José Miguel Alves Ribeiro

Dedicatória

À minha família, a minha base de apoio fundamental.

À minha mãe por me motivar diariamente a dar o melhor de mim e de me fazer acreditar, à sua maneira única, que nada é impossível.

Ao meu pai pelo apoio incondicional que me transmite todos os dias e por me exigir não só resultados, mas sobretudo empenho, esforço e dedicação.

Ao meu irmão pelo incentivo que me transmite e estar sempre presente, mesmo que à distância.

À minha namorada pelo carinho diário que me ajuda a ultrapassar dificuldades e por me dizer a verdade quando mais preciso.

Ao meu padrinho e avô de Gens (*in memoriam*), que lá em cima tenha conseguido assistir à concretização do nosso sonho.

Rituximab na terapêutica da nefropatia membranosa

Rituximab in the treatment of membranous nephropathy

Ribeiro, J.¹ Pestana, M.²

¹Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Alameda Professor Hernâni Monteiro, Hospital de São João 4200-319 Porto, Portugal

²Departamento de Nefrologia, Centro Hospitalar São João, Alameda Professor Hernâni Monteiro, Hospital de São João 4200-319 Porto, Portugal

Autor Correspondente

José Miguel Alves Ribeiro Telefone +351916024705 E-mail: up201305703@med.up.pt
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto Morada: Rua S. João de Deus,
nº340 4420-317 Gondomar, Porto, Portugal

Título para cabeçalho

Rituximab na terapêutica da nefropatia membranosa

Rituximab in the treatment of membranous nephropathy

Resumo

A nefropatia membranosa é a causa mais comum de síndrome nefrótica primária em adultos caucasianos em todo o Mundo.

Avanços significativos nos últimos anos permitiram aprimorar o conhecimento em relação a esta patologia glomerular. De facto, a recente descoberta de autoanticorpos dirigidos para determinados antígenos presentes nos podócitos glomerulares e subsequente identificação destes, alteraram consideravelmente as estratégias de diagnóstico, classificação e tratamento desta patologia.

Diversos esquemas terapêuticos imunossupressores têm sido propostos para o tratamento da nefropatia membranosa. Contudo, a terapêutica imunossupressora é ainda altamente debatida, sobretudo devido ao curso variável da doença, mas também à toxicidade e custos significativos associados.

O crescente conhecimento do papel das células B na patogénese da nefropatia membranosa conduziu ao uso do rituximab, um anticorpo monoclonal anti-CD20, que surgiu como uma alternativa segura e eficaz para o tratamento desta patologia.

Assim, o objetivo desta revisão é explorar as várias opções terapêuticas disponíveis para o tratamento da nefropatia membranosa, com particular destaque para o uso do rituximab, que de acordo com vários autores, deverá tornar-se a terapêutica de primeira linha no tratamento desta patologia glomerular.

Deste modo, procedeu-se a uma revisão bibliográfica sustentada pela base de dados PubMed/Medline, onde se selecionou 47 artigos. Nesta, as palavras-chave consideradas pertinentes para a presente revisão foram as seguintes: “nefropatia membranosa”, “síndrome nefrótica”, “recetor de fosfolipase A2 do tipo M” (PLA2R), “diagnóstico”, “prognóstico”, “tratamento” e “rituximab”.

Conclui-se que, apesar da evidência já existente relativamente à eficácia e segurança do rituximab em comparação com as restantes opções terapêuticas, são necessários mais estudos randomizados e controlados, para que o rituximab possa ser definido como o tratamento *gold standard* na nefropatia membranosa.

Palavras-chave: nefropatia membranosa, síndrome nefrótica, recetor de fosfolipase A2 do tipo M (PLA2R), diagnóstico, prognóstico, tratamento, rituximab.

Abstract

Membranous nephropathy is the most common cause of primary nephrotic syndrome in caucasian adults worldwide.

Significant advances in recent years have made it possible to improve knowledge about this glomerular pathology. A recent discovery of autoantibodies directed to antigens present in glomerular podocytes and their subsequent identification, significantly altered the strategies for diagnosis, classification, and treatment of this pathology.

Several immunosuppressive therapeutic schemes have been proposed for the treatment of the membranous nephropathy. However, immunosuppressive therapy is still highly debated, mainly due to the variable course of the disease, but also due to significant associated toxicity and costs.

The growing knowledge of the role of B cells in the pathogenesis of membranous nephropathy has led to the use of rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody, which has emerged as a safe and effective alternative for the treatment of this pathology.

Therefore, this review aims to explore the various therapeutic options available for the treatment of membranous nephropathy, with particular emphasis on the use of rituximab, which according to several authors, should become the first-line therapy in the treatment of this glomerular pathology.

Thus, a bibliographic review was carried out, supported by the PubMed / Medline database, where 47 articles were selected. In this, the keywords considered relevant to the present review were the following: "membranous nephropathy", "nephrotic syndrome", "type M phospholipase A2 receptor" (PLA2R), "diagnosis", "prognosis", "treatment" and "rituximab".

We conclude that, despite the evidence that already exists regarding the efficacy and safety of rituximab compared to the remaining therapeutic options, more randomized and controlled studies are needed, so that rituximab can be defined as the *gold standard* treatment for membranous nephropathy

Key-words: membranous nephropathy, nephrotic syndrome, phospholipase A2 receptor (PLA2R), diagnosis, prognosis, treatment, rituximab.

Índice

Introdução.....	7
Métodos	9
Epidemiologia.....	10
Patogenia.....	11
Genética.....	15
Diagnóstico.....	16
Manifestações clínicas.....	18
Prognóstico.....	19
Tratamento	22
Tratamento de suporte	22
Tratamento imunossupressor.....	23
Corticosteróides.....	24
Corticosteróides e agentes alquilantes	25
Inibidores de calcineurina.....	27
Antimetabólitos	28
ACTH.....	29
Rituximab.....	31
Conclusão.....	37
Bibliografia	39
Agradecimentos	43
Anexos	44

Introdução

A nefropatia membranosa (NM) é a causa mais frequente de síndrome nefrótica primária em adultos caucasianos¹.

Tendo em consideração a sua etiologia, a NM pode ser classificada em primária ou secundária. De facto, quando não se identifica uma causa específica, considera-se NM primária (NMP), tratando-se de uma patologia glomerular autoimune específica do rim, mediada por autoanticorpos dirigidos para determinados antígenos presentes nos podócitos. Os principais alvos antigénicos identificados na NM são o recetor fosfolipase A2 do tipo M (PLA2R), presente em cerca de 70-80% dos casos e a trombospondina tipo 1 com domínio contendo 7A (THSD7A), em cerca de 5-10% dos casos².

A NM secundária (NMS), por sua vez, está associada a diversas causas específicas, nomeadamente, doenças autoimunes sistémicas (ex. LES), infeções (ex. hepatites C ou B), neoplasias malignas (ex. pulmão ou próstata) e exposição a determinados fármacos (ex. AINEs ou d-penicilamina) ou toxinas (ex. mercúrio ou ouro)³.

O termo NM idiopática (NMI) deve ser restrito aos restantes casos, onde não são identificados autoanticorpos⁴.

A NMP manifesta um padrão patognomónico de lesão glomerular, histologicamente caracterizado pela presença de projeções em forma de cunhas (“*spikes*”) do aspeto externo da membrana basal glomerular (MBG) e subsequente espessamento da mesma, em consequência da deposição subepitelial de imunocomplexos⁵.

A principal manifestação clínica da NM é a proteinúria, no entanto, esta patologia glomerular é variável e imprevisível, o que pode levar a que os doentes evidenciem síndrome nefrótica característica ou permaneçam assintomáticos com proteinúria sub-nefrótica⁶.

Embora em, aproximadamente, um terço dos doentes com NMP possa ocorrer remissão espontânea, cerca de 30 a 40% dos doentes mantêm proteinúria persistente, progredindo para a insuficiência renal terminal num período de cinco a quinze anos⁷.

A dificuldade em distinguir entre doentes com doença progressiva e não progressiva tem sustentado, cada vez mais, um extenso e complexo debate acerca das abordagens terapêuticas de doentes com NMP. A percentagem significativa de doentes com NMP que podem progredir para insuficiência renal terminal reforça a importância de estratificar o risco de progressão desta patologia e de estabelecer esquemas terapêuticos individualizados e eficazes⁴.

O tratamento da NMP tem sido alvo de intenso debate e estudo, não sendo consensual, ainda hoje, a opinião dos nefrologistas em relação à terapêutica mais indicada.

Há mais de 30 anos, a terapia imunossupressora com recurso a altas doses de prednisona foi usada para tratar a síndrome nefrótica em doentes com NMP⁸. Desde então, com a melhor compreensão da patogénese da NMP, diversos esquemas terapêuticos imunossupressores têm sido propostos. Ainda assim, o uso de terapêutica imunossupressora é ainda bastante debatido. Tal acontece, não só pelo curso clínico variável da doença, mas também pela toxicidade e custos associados. Para além disso, a escassez de ensaios clínicos controlados e randomizados condiciona a existência de evidência concreta para sustentar novos protocolos de tratamento⁹.

Posto isto, os objetivos desta revisão são resumir as diversas opções terapêuticas disponíveis para o tratamento da NMP e debater acerca da qualidade e força da evidência. De referir que será dado particular destaque ao uso do anticorpo monoclonal quimérico, o rituximab, no tratamento da NMP.

Métodos

A metodologia aplicada para a realização desta monografia consistiu na consulta da *PubMed/Medline*, a base de dados de informação bibliográfica produzida e disponibilizada pela *National Library of Medicine*.

As palavras-passe utilizadas na pesquisa foram: “*membranous nephropathy*”, “*nephrotic syndrome*”, “*phospholipase A2 receptor*” (PLA2R), “*diagnosis*”, “*prognosis*”, “*treatment*”, “*rituximab*”, de modo a obter a evidência com maior ênfase na temática abordada.

De referir que foram excluídos os artigos em qualquer outra língua que não o inglês ou o português e que não se aplicou qualquer tipo de filtro cronológico. Para além disso, recorreu-se ao filtro de espécie, de forma a restringir a evidência exclusivamente relativa aos humanos.

Foram considerados sobretudo os estudos de maior nível de evidência, como ensaios clínicos randomizados ou revisões sistemáticas relativas ao tema abordado na presente revisão.

Assim, após a realização da pesquisa bibliográfica, foram selecionados os artigos considerados relevantes para esta revisão, a partir da leitura do título e resumo. Posteriormente à análise destes, foram ainda adicionalmente incluídos determinados artigos referenciados nos mesmos. No total, foram selecionados 47 artigos pela maior pertinência e concordância com o tema.

Epidemiologia

A NMP é uma das glomerulonefrites mais comuns em adultos em todo o Mundo, sendo responsável por cerca de 20% de todos os casos de síndrome nefrótica nesta faixa etária. A incidência, por ano, de NMP é de cerca de cinco a dez por milhão, sendo a primeira causa de síndrome nefrótica primária em caucasianos. Esta patologia tem predomínio masculino 2:1, podendo surgir em qualquer idade, havendo, no entanto, um aumento da incidência com a idade. De facto, a NMP é incomum em idades pediátricas, verificando-se o pico de incidência entre a quarta e a quinta década de vida³.

Patogenia

O termo glomerulonefrite membranosa foi usado pela primeira vez por Bell, em 1946, para descrever uma categoria de patologias glomerulares, caracterizadas clinicamente por início insidioso, presença de edema e proteinúria severa¹⁰.

De facto, até 1956, a NM não era considerada uma entidade clínica separada, quando Jones criou um novo método de coloração, o ácido periódico prata metenamina, conhecida como coloração de Jones, que permitiu observar a MGB com mais contraste, e como tal, com melhor detalhe, permitindo a visualização de alterações morfológicas características desta patologia, tais como, o espessamento difuso e uniforme da parede capilar e as projeções em forma de cunhas da MGB, descritas mais tarde como “*spikes*”¹¹.

Esta descoberta impulsionou investigações com o intuito de caracterizar morfológicamente esta patologia.

Em 1957, Mellors et al. identificaram um componente característico da NMP, a presença de imunoglobulinas nos depósitos imunes em glomérulos de doentes afetados por NM, usando a técnica de imunofluorescência, sustentando parcialmente a suspeita, que já havia na altura de que a NM era uma patologia autoimune. Em 1959, Movat e McGregor identificaram a localização subepitelial dos depósitos, ocupando os espaços entre a MBG alterada, recorrendo a microscopia eletrónica¹⁰.

Deste modo, em apenas 2 anos, foi delineada a tríade de características essenciais e diagnósticas da lesão de NM, nomeadamente, alterações na estrutura da MBG e a presença de depósitos imunes subepiteliais, contendo imunoglobulinas¹⁰.

No entanto, em 1959, verificou-se um avanço significativo na compreensão da patofisiologia da NM, quando Heymann et al. descreveram um modelo animal de NM, posteriormente conhecido como nefrite de Heymann (NH), patologia induzida em laboratório, idêntica à NM nos humanos, tanto clínica como morfológicamente. Assim, a

NH tornou-se alvo de intensa investigação laboratorial, por se tratar de um modelo reprodutível e útil para o estudo da patogenia da NM humana, fornecendo conceitos fundamentais acerca da formação dos imunocomplexos e da lesão capilar glomerular associada, de tal forma que, os conceitos atuais derivam, ainda, essencialmente de estudos realizados em modelos de Heymann¹⁰.

Existem duas formas nefrite de Heymann, a forma ativa (NHA) e a forma passiva (NHP).

Na NHA, modelo original descrito por Heymann, a administração intraperitoneal de extratos de córtex renal juntamente com adjuvante completo de Freund, induz imunização ativa numa determinada estirpe de ratos, uma vez que estimula o sistema imune do próprio animal a produzir anticorpos autólogos para o antigénio renal¹¹.

Por sua vez, a NHP resulta da administração de anti-soro, produzido noutra animal, desenvolvendo-se em duas fases distintas, a fase heteróloga inicial, na qual os anticorpos injetados se ligam aos antigénios dos podócitos e uma subsequente fase autóloga que consiste na formação de anticorpos autólogos¹¹.

Aquando da descrição original da NHA, já se suspeitava do carácter autoimune da NMP, de tal forma que Heymann considerava este modelo de patologia renal, um exemplo perfeito de uma “nefrose autoimune”, embora o antigénio alvo e o vetor autoimune patológico fossem, na época, desconhecidos¹⁰.

Estudos subsequentes, recorrendo a estes modelos experimentais, revelaram que os depósitos patognomónicos da NH resultavam da formação *in situ* de imunocomplexos subepiteliais, formados em resultado da ligação de anticorpos, provenientes da circulação, a um antigénio pertencente à família dos recetores de LDL, denominado megalina, uma proteína membrana dos podócitos dos ratos, não expressa, no entanto, em podócitos humanos¹².

Por este motivo, o foco principal dos estudos subsequentes passou a ser a identificação dos alvos antigénicos podocitários em humanos¹².

Em 2002, Debiec et al. demonstraram que a NM em humanos envolve um mecanismo patológico análogo, descrevendo pela primeira vez, em recém-nascidos de progenitoras com défice de endopeptidase neutral (EPN) uma NM aloimune mediada por anticorpos maternos anti-endopeptidase neutral (anti-EPN), que atravessam a barreira placentária, formando imunocomplexos *in situ* com a EPN presente nas membranas dos podócitos do recém-nascido¹³.

Estes estudos inovadores confirmaram um denominador comum acerca da NM, enunciado anteriormente por Kerjaschki, “os podócitos e as suas proteínas membranares têm um papel fundamental no desenvolvimento da doença, fornecendo alvos antigénicos para os anticorpos circulantes e para a formação de depósitos imunes”¹⁰.

Estes estudos constituíram, assim, o ponto de partida para um esforço contínuo e concertado, com o intuito de “dissecar molecularmente os antígenos alvo e os anticorpos nefrogénicos” envolvidos na patogénese da NM humana¹⁰.

De tal forma que, na última década, vários estudos publicados permitiram uma considerável melhoria na compreensão da patogenia da NM, apesar desta ainda não estar completamente definida.

Em 2009, Back et al. demonstraram que, na NMP, o recetor de fosfolipase A2 do tipo M (PLA2R), proteína presente nas membranas dos podócitos, é o principal antígeno alvo para os autoanticorpos, em cerca de 70-80% dos casos. Recorrendo à técnica *Western blot*, extratos proteicos de glomérulos humanos normais foram adicionados a amostras de soro de indivíduos com NM, primária ou secundária, outras glomerulonefrites ou doenças autoimunes e de indivíduos controlos, tendo sido possível identificar, em doentes com NMP, reatividade específica contra uma proteína com cerca

de 185 kDa, posteriormente identificada como PLA2R, com recurso a espectrometria de massa. Através de técnicas de imunofluorescência foi possível localizar a expressão deste antigénio nas membranas dos podócitos. Os imunocomplexos são constituídos essencialmente por anticorpos IgG4 anti-PLA2R, apesar de outras subclasses também estarem presentes em menores quantidades. A análise de várias amostras de soro colhidas, em série, de doentes com NM sugeriu que a presença de anticorpos anti-PLA2R circulantes corresponde à atividade da doença¹⁴.

Em 2014, Tomas et al. identificaram um novo alvo antigénico glomerular, associado a cerca de 5-10% dos casos de NM primária, a trombospondina tipo 1 com domínio contendo 7A (THSD7A)¹⁵.

Na NMP, a principal causa de proteinúria é a lesão podocitária¹¹. O sistema do complemento desempenha um papel fundamental na patogénese desta lesão podocitária, e conseqüentemente, no desenvolvimento de proteinúria nos doentes com NMP, uma vez que, os imunocomplexos subepiteliais iniciam a ativação do sistema do complemento, sobretudo por via das lectinas, com a ativação do factor C3 e subsequente formação do factor C5b que inicia a formação do complexo de ataque à membrana. Este complexo leva à produção intracelular de proteases, espécies reativas de oxigénio, stress do retículo endoplasmático e alterações citoesqueléticas, que induzem apoptose celular, descolamento de células da MBG e conseqüente degradação da mesma⁷.

Genética

O maior avanço na compreensão dos fatores genéticos envolvidos na patogenia da NMP, ocorreu em 2011, quando Stanescu et al. desenvolveram três estudos de associação genômica ampla de polimorfismos de nucleotídeo único em doentes com NMP de três populações europeias, com descendência caucasiana (franceses, holandeses e ingleses) demonstrando uma forte associação de dois *loci* genômicos, HLA-DQA1 e PLA2R1, com um risco significativo de desenvolvimento de NMP¹⁶.

O braço curto do cromossoma 6 contém o gene que codifica o antígeno leucocitário humano (HLA) classe II DQ alfa1 (HLA-DQA1; SNP rs2187668), enquanto que o cromossoma 2 contém o gene que codifica o PLA2R do tipo M (PLA2R1; SNP rs4664308) Segundo Stanescu et al. o *odds ratio* para o desenvolvimentos de MN primária em homozigóticos para ambos os alelos de risco é 78,5¹⁶.

A expressão homozigótica do alelo HLA DQA1 confere um maior risco de doença quando comparada à do alelo PLA2R. Apesar desta descoberta, os casos familiares de NMP são muito escassos e para além disso, cerca de 30% dos doentes com NMP não evidenciam anticorpos anti-PLA2R1, estando outros antígenos envolvidos na patogenia desta patologia¹⁶.

Diagnóstico

A NM é uma patologia caracterizada pelo espessamento uniforme e difuso da MBG, em consequência da deposição de imunocomplexos na região subepitelial da MBG, que tenta responder, de forma a manter contacto entre as células epiteliais, emitindo projeções subepiteliais (“*spikes*”) que envolvem os imunocomplexos e depois espessando-se de forma a incorporá-los³.

Ehrenreich & Churg descreveram quatro estádios desta patologia, baseados em microscopia eletrónica, mais tarde reformulados para também incluir lesões visualizáveis em microscopia ótica e imunofluorescência. As lesões características do estágio I, não são observáveis por microscopia ótica. De facto, a fase inicial da NM consiste na acumulação de imunocomplexos de IgG no aspeto externo da MGB, podendo ser observados por microscopia eletrónica ou imunofluorescência. Estes depósitos, em primeira instância, finamente granulares e dispersos, geralmente, não aparentam provocar alterações na MBG. Contudo, existe a possibilidade da presença de pequenas depressões focais nesta fase. No estágio II, os depósitos imunes alargam, sendo envolvidos por projeções da MGB, sendo esta fase observável por microscopia ótica, recorrendo à coloração de Jones, observando-se “*spikes*” entre os imunocomplexos. Nas fases mais avançadas, a MGB espessada envolve por completo os depósitos imunes (estádio III), que podem ser reabsorvidos, o que explica a variabilidade na densidade eletrónica destes depósitos e reflete-se através da aparência vacuolar adquirida pela MBG (estádio IV), observada com recurso à coloração de Jones¹¹.

É importante referir que as lesões patológicas e o estágio da NM, têm uma correlação pobre com o prognóstico e com a resposta ao tratamento³.

Como referido anteriormente, recorrendo a técnicas de imunofluorescência, observam-se depósitos granulares de Ig subepiteliais ao longo da MBG. Na NMP a

imunoglobulina predominante é da subclasse IgG4, de tal modo que deve-se suspeitar de causa secundária caso haja preponderância das subclasses IgG1 ou IgG3. A observação de sobreposição espacial de PLA2R ou THSD7A com IgG4 é um achado muito sugestivo de NMP³.

A localização subepitelial dos imunocomplexos, em microscopia eletrónica, é característica da NMP, pelo que, a presença de depósitos subendoteliais ou mesangiais sugere uma causa secundária³.

O *gold standard* para o diagnóstico de NM é a biópsia renal, apesar de alguns autores não considerarem a biópsia essencial, uma vez que a presença de autoanticorpos anti-PLA2R plasmáticos é extremamente específica de NMP (quase 100%), uma vez que estes anticorpos não são detetados em circulação em indivíduos saudáveis ou noutras patologias autoimunes. No entanto, em casos com serologia negativa para os anticorpos anti-PLA2R, a biópsia é indispensável para o diagnóstico³.

Manifestações clínicas

A NM é a segunda causa de síndrome nefrótica na população adulta, sendo a principal em doentes ≥ 65 anos. A apresentação típica da NM é proteinúria, sendo que a maioria dos doentes, cerca de 80%, evidenciam síndrome nefrótica típica, isto é, proteinúria nefrótica não seletiva ($>3,5$ g/dia), hipoalbuminemia e dislipidemia, enquanto que os restantes 20%, apresentam proteinúria subnefrótica⁶.

Geralmente, à data do diagnóstico, a maioria dos doentes evidência função glomerular normal ou ligeiramente diminuída, com uma taxa de filtração glomerular média de $75 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ ¹¹.

Hematúria microscópica está frequentemente presente entre 30-40% dos casos, por outro lado, hematúria macroscópica é rara e, geralmente, indicativa de outro tipo de processo patológico glomerular, trombose da veia renal ou neoplasia urológica¹.

As consequências clínicas da NM podem surgir a curto ou a longo-prazo. A curto-prazo, as complicações são consequência da síndrome nefrótica, com a maior propensão para eventos trombóticos ou tromboembólicos, diretamente proporcional ao grau de hipoalbuminemia, maior risco de infeção, por perda urinária de imunoglobulinas e doença cardiovascular¹⁷.

A longo-prazo, por sua vez, a principal complicação é a perda progressiva de função renal¹⁸.

Prognóstico

Como referido previamente, a apresentação clínica característica da NM primária é a síndrome nefrótica, presente em cerca de 80% dos adultos. Em geral, cerca de um terço dos doentes com NM primária desenvolvem remissão completa ou parcial, apresentando um ótimo prognóstico. Enquanto que 30 a 40% dos doentes apresentam proteinúria sustentada, estando em risco de desenvolver insuficiência renal terminal, em 5 a 15 anos, necessitando, portanto, de tratamento imunossupressor⁶.

Para além disso, um atraso no tratamento, pode expor os doentes a complicações associadas ao síndrome nefrótica, tais como, infeções, edemas e eventos trombóticos, algo que pode ser evitado com a determinação precoce do prognóstico para cada doente, importante não só para iniciar tratamento de forma a reverter o síndrome nefrótica em doentes de alto risco, mas também para evitar a exposição a terapêuticas tóxicas e agressivas em doentes de baixo risco¹⁹.

Vários estudos documentaram detalhadamente o curso e prognóstico de doentes com NM primária não tratados, com o intuito de determinar quais os parâmetros laboratoriais e clínicos eficazes para prever o subgrupo de doentes que beneficiariam de terapêutica imunossupressora, de forma a evitar progressão para insuficiência renal^{20,21}.

Foram analisados vários fatores clínicos, tais como, etnicidade, género, idade, patologia renal, função renal, grau de proteinúria e biomarcadores urinários. Cattran et al. há mais de duas décadas, desenvolveram um modelo de regressão logística, o *Toronto Risk Score*, evidenciando precisão de cerca de 85-90% para previsão de um curso clínico desfavorável. Recorrendo ao grau de proteinúria persistente durante 6 meses após o diagnóstico, a *clearance* de creatinina inicial e declive da *clearance* de creatinina criaram um *score* de risco, de modo a classificar os doentes com NMP de baixo, médio e alto risco²².

Com base nesse modelo, os pacientes com baixo risco de progressão apresentam uma *clerance* de creatinina normal, proteinúria consistentemente inferior a 4 g/d, e apresentam função renal estável durante o período de observação de 6 meses. Pacientes com risco médio de progressão, probabilidade entre 50 e 55% de progressão para insuficiência renal terminal a 10 anos, apresentam função renal normal inalterada durante 6 meses de observação, mas permanecem com proteinúria entre 4 e 8 g/d. Os classificados como de alto risco para progressão, probabilidade de 65 a 80% de progressão para IRT avançada dentro de 10 anos após o diagnóstico, apresentam proteinúria persistente superior a 8 g/d, independentemente da função renal²².

Para além deste *score* de risco, também alguns biomarcadores urinários demonstraram ser úteis no prognóstico de evolução da NM. De facto, a excreção urinária de IgG (limiar: 250 mg/24h) e proteínas de baixo peso molecular, β 2-microglobulina (limiar: 0,5 μ g/min) e α 1-microglobulina (limiar: 40 μ g/min) demonstraram ser preditores úteis de insuficiência renal em doentes com NMP²³.

No entanto, atualmente, quer a proteinúria, quer a creatinina sérica podem não refletir adequadamente a atividade da doença e não discriminam entre doença imunologicamente ativa e lesão estrutural podocitária irreversível. Como referido anteriormente, os níveis séricos de anticorpos anti-PLA2R correlacionam-se não só com a atividade da doença, mas também fornecem informação prognóstica acerca da severidade da doença, sendo um biomarcador para determinar a resposta ao tratamento²⁴.

De facto, doentes com níveis plasmáticos reduzidos de anticorpos anti-PLA2R têm uma maior probabilidade de desenvolver remissão espontânea, ao contrário de doentes que apresentam valores elevados deste anticorpo no plasma, os quais evidenciam maior risco de progressão para insuficiência renal terminal, pelo que nestes deve ser ponderado o início precoce da terapêutica imunossupressora²⁴.

Deste modo, recentemente, foi proposta uma nova abordagem terapêutica individualizada e baseada na serologia.

De acordo com esta abordagem, a subida ou níveis persistentemente altos destes anticorpos, indicam uma baixa probabilidade de remissão espontânea e como tal, deve ser considerada a iniciação precoce de terapia imunossupressora. Do mesmo modo, em doentes que evidenciam uma diminuição significativa destes anticorpos no plasma, mais de 90% em 6 meses, deve ser considerado a interrupção da terapia imunossupressora. Por fim, em doentes que ao fim de 6 meses de tratamento não evidenciem uma diminuição dos níveis destes anticorpos superior a 50%, deve ser considerada a alteração da terapia imunossupressora²⁵.

Esta abordagem tem como propósito, melhorar a precisão do prognóstico, disponibilizando tratamento individualizado a doentes com NMP com anticorpos no plasma e do mesmo modo limitar a exposição desnecessária a terapia imunossupressora e possíveis efeitos adversos associados²⁵.

Estes autores sugeriram um algoritmo de atuação para o tratamento da NMP, no entanto, são necessários mais ensaios clínicos para validar a sua aplicabilidade na prática clínica²⁵.

Tratamento

O tratamento da NMP, sempre foi desafiante, sobretudo devido ao curso variável desta patologia. Como referido anteriormente, cerca de um terço dos doentes com NMP desenvolvem remissão espontânea, enquanto que cerca de 30-40% dos doentes desenvolvem insuficiência renal terminal em 5 a 15 anos.

Em 2012, o grupo “*Kidney Disease Improving Global Outcomes*” (KDIGO) publicou *guidelines* para o tratamento de MN²⁶.

Os recentes e significativos avanços na compreensão da patogenia da NMP, assim como novos estudos e ensaios clínicos sugerem que as recomendações feitas pelas *guidelines* de 2012 devem ser revistas.

Tratamento de suporte

Várias complicações associadas a patologias glomerulares, surgem na sequência, não do padrão histopatológico específico da patologia, mas da sua apresentação clínica. Assim, deve-se proceder ao controlo preciso destas complicações, que afetam o curso natural da doença. Isso inclui medidas para controlo da pressão arterial, redução da proteinúria, controlo do edema e de outras consequências metabólicas e trombóticas da síndrome nefrótica, associadas a morbidade e mortalidade significativas²⁷.

Todos os doentes com NM devem receber tratamento de suporte, desde o diagnóstico, com o principal objetivo de reduzir a proteinúria e prevenir a progressão para insuficiência renal terminal²⁶.

O tratamento de suporte consiste na modificação dos fatores de risco cardiovasculares, através da cessação tabágica, alteração do estilo de vida, controlo dos níveis de colesterol e controlo da tensão arterial, de preferência para valores inferiores a 125/75 mmHg, através da restrição do consumo de sal na dieta, do uso

diuréticos e bloqueadores do sistema renina angiotensina aldosterona, nomeadamente inibidores da enzima conversora da angiotensina e bloqueadores do recetor da angiotensina²⁷.

Doentes com síndrome nefrótica apresentam, frequentemente, perturbações no metabolismo dos lipídeos, de tal forma, que a dislipidemia é um critério da definição da síndrome. Níveis elevados de colesterol contribuem não só para um aumento do risco de doença vascular em pacientes nefróticos, mas também afetam negativamente a função renal. Portanto, o uso de estatinas é apropriado em doentes com síndrome nefrótica e dislipidemia associada²⁷.

A proteinúria não é apenas um marcador de disfunção glomerular, sendo também um indicador de progressão da doença, de tal modo, que o grau de proteinúria se correlaciona com a taxa de progressão para insuficiência renal. Deste modo, qualquer medida que reduza o grau de proteinúria, mesmo que não afete o processo patológico subjacente, poderá atrasar a progressão, sobretudo em doentes com doença moderada. A restrição proteínas na dieta, geralmente para menos de 0,8 g/kg/dia, pode reduzir a proteinúria em 15 a 25% e atrasar a progressão da lesão renal, sem efeitos colaterais significativos ou alterações adversas nos níveis séricos de proteínas²⁷.

O uso de anti-coagulação profilática, deve ser pensada, no caso de doentes com NMP, que apresentem hipoalbuminemia severa (<2,5 g/dL) e outros fatores de risco adicional para desenvolvimento de trombose, por exemplo, história de evento tromboembólico idiopático anterior, imobilização, insuficiência cardíaca grave, obesidade mórbida ou cirurgia abdominal, ortopédica ou ginecológica²⁷.

Tratamento imunossupressor

De acordo com as KDIGO 2012 *guidelines*, doentes com NMP, apenas devem iniciar terapêutica imunossupressora se apresentarem síndrome nefrótica e uma das seguintes condições:

1. Excreção urinária de proteínas excede persistentemente os 4 g/dia e permanentemente >50% em relação ao valor de base, não evidenciando declínio progressivo durante a terapêutica anti-hipertensora e antiproteinúrica, durante um período de observação de pelo menos 6 meses. (1B)
2. Presença de sintomas graves, incapacitantes ou *life-threatening* associados à síndrome nefrótica. (1C)
3. Aumento da creatinina plasmática $\geq 30\%$ em 6 a 12 meses desde a data do diagnóstico, mas a taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) não é inferior a 25-30 mL/min/1.73m², não sendo essa mudança explicada por outras complicações. (2C)

Terapêutica imunossupressora não deve ser aplicada em casos com creatinina plasmática superior a 3,5 mg/dL, TFGe inferior a 30 mL/min/1.73m², doentes com rins reduzidos em ecografia e doentes que apresentem concomitantemente infeções severas²⁶.

Corticosteróides

Em 1979, foi publicado o primeiro ensaio clínico randomizado em doentes com NM. Neste estudo, 72 doentes com síndrome nefrótica e diagnóstico histológico de NM, foram aleatoriamente randomizados num grupo experimental (n=42), submetidos a um regime de alta dose de prednisona (125mg em dias alternados) durante 8 semanas, e grupo controlo que recebeu placebo.

A taxa de deterioração da função renal foi significativamente menor no grupo experimental, em comparação com o controlo⁸.

No entanto este estudo foi criticado pela baixa sobrevivência renal no grupo de controlo durante o curto período de *follow up* (23 meses em média).

Subsequentemente, em 1989 e 1990, foram publicados dois ensaios controlados e randomizados não demonstrando benefício da monoterapia com prednisona, quer ao nível da sobrevida, proteinúria ou função renal em doentes com NM^{28,29}.

A utilização de altas doses de corticosteróides orais, em monoterapia, não só não demonstrou benefícios no tratamento da NMP, como está associada a elevada toxicidade e diversos efeitos adversos, como tal outras opções terapêuticas devem ser consideradas⁸.

Corticosteróides e agentes alquilantes

Em 1984, Ponticelli et al. demonstram a eficácia de um regime terapêutico com associação de corticosteróides (prednisona e metilprednisolona) e agentes alquilantes (clorambucil) em doentes com NM, síndrome nefrótica e função renal normal.

O regime de Ponticelli consiste num esquema terapêutico de seis meses em que no primeiro mês são administrados corticosteróides, nomeadamente metilprednisolona i.v. (1g) durante três dias consecutivos, seguida de prednisona oral (0,4 mg/kg/dia) ou metilprednisolona oral (0,5 mg/kg/dia) até ao fim do mês. Posteriormente, suspende-se os corticosteróides e administra-se clorambucil (0,2 mg/kg/dia) durante um mês. Repetindo-se este ciclo até ao final do tratamento.

Após um período de *follow up* médio de 31 semanas, o grupo experimental (n=32), submetido ao regime de Ponticelli, evidenciou uma taxa de remissão, total ou parcial, de 72%, em comparação com 30% do grupo de controlo³⁰.

Posteriormente, um follow-up de 10 anos confirmou a eficácia deste regime, no atingimento de remissão (62%) e sobrevida sem necessidade de diálise (92%), no grupo tratado, em comparação com o grupo controlo (33 e 66%, respetivamente).

Neste estudo, os autores já demonstravam preocupação com a possibilidade de desenvolvimento de complicações iatrogénicas, uma vez que 10% dos doentes tiveram

de interromper o tratamento pelo desenvolvimento de efeitos adversos, reversíveis com a suspensão do tratamento³¹.

Num estudo subsequente, em 1998, o grupo de Ponticelli comparou o clorambucil com a ciclofosfamida, de modo a determinar qual o agente alquilante mais eficaz no tratamento da NMP. Levando a cabo um estudo randomizado, comparando dois grupos de doentes, em que um recebeu o regime de Ponticelli, enquanto o outro recebeu um esquema terapêutico semelhante ao regime de Ponticelli, mas em que o agente alquilante utilizado foi a ciclofosfamida (regime de Ponticelli modificado). Apesar de não se verificarem diferenças estatisticamente significativas nas taxas de remissão e recaída, verificou-se maior segurança no grupo que recebeu ciclofosfamida, evidenciando uma percentagem menor de doentes que tiveram de interromper o tratamento pelo desenvolvimento de efeitos adversos (5%) em comparação com o grupo do clorambucil (14%)³².

Jha et al. em 2007, confirmaram a eficácia deste regime terapêutico no tratamento da NMP. Comparando com o grupo controlo, submetido apenas a terapia de suporte, o grupo submetido ao regime de Ponticelli modificado, apresentou uma taxa de remissão significativamente superior (35% vs 72%). Assim, estes autores concluíram que este tratamento não só é eficaz em retardar a progressão para insuficiência renal, como também melhora os sintomas e complicações associados à síndrome nefrótica e consequentemente a qualidade de vida³³.

As *guidelines* de 2012 sugerem este regime como o *gold standard* para o tratamento da NMP, evidenciando maior grau de recomendação (1B)²⁶.

No entanto, apesar da eficácia comprovada deste regime terapêutico, muitos nefrologistas ainda têm dúvidas acerca do seu uso no tratamento da NM, devido aos diversos efeitos adversos associados⁹.

Os principais efeitos adversos associados à ciclofosfamida, sobretudo em doses cumulativas (>36g) são malignidade (câncer da bexiga e leucemia mieloide aguda), infertilidade e supressão medular³⁴.

Tendo em conta que este regime também envolve o uso de corticosteróides, devemos ter igualmente em consideração os efeitos adversos associados a estes, nomeadamente, a diabetes induzida por corticosteróides, fraturas ósseas e complicações tromboembólicas⁹.

Inibidores de calcineurina

Os inibidores da calcineurina foram introduzidos no início dos anos 80, para a prevenção de rejeição de implantes, tendo sido, desde logo, aparente que estes fármacos reduzem a proteinúria.

Inicialmente, este efeito antiproteinúrico foi associado a efeitos hemodinâmicos, através da redução da perfusão glomerular, à ação destes fármacos sobre as células T, uma vez que atenuam a expressão de citocinas promotoras do crescimento celular e a efeitos diretos nos podócitos, através de alterações no citoesqueleto destas células, por interação com a sinaptopodina. Atualmente, conhecemos o efeito das células T sobre as células B que explica a ação destes fármacos na redução da produção de anticorpos⁹.

As KDIGO *guidelines* recomendam o uso de ciclosporina ou o tacrolimus em doentes em que o regime de Ponticelli modificado esteja contraindicado (1C)²⁶.

Em 1995, Cattalan et al. publicaram um ensaio randomizado e controlado, que comprovou pela primeira vez a eficácia da monoterapia com ciclosporina (3,5 mg/kg/dia durante 12 meses) em induzir redução da proteinúria em doentes com NMP, melhorando ainda a clearance da creatinina³⁵.

Num estudo subsequente, publicado em 2001, estes autores demonstraram que o uso de um regime terapêutico constituído por duas doses diárias de ciclosporina oral

(3,5 mg/kg/dia) e uma baixa dose de prednisona (0,15mg/kg/dia), durante 6 meses, induzia remissão parcial ou completa da proteinúria em cerca de 70% dos doentes do grupo sujeito ao tratamento.

Apesar destes resultados, verificaram-se altas taxas de recidiva, cerca de 48% às 73 semanas, associadas a este regime terapêutico³⁶.

O tacrolimus foi introduzido por Praga et al. que compararam o efeito deste fármaco e terapia de suporte com um grupo de controlo que apenas recebeu terapia de suporte, demonstrando a eficácia da monoterapia com tacrolimus (0,05 mg/kg/dia), uma vez que a taxa de remissão foi superior (76%) no grupo experimental em comparação com o controlo (30%). No entanto, a taxa de recidiva, após suspensão do tratamento foi também muito alta (50%), no período de 18 meses³⁷.

Os principais efeitos adversos associados ao uso de inibidores da calcineurina são hipertensão e nefrotoxicidade³⁴.

Antimetabólitos

Micofenolato de monfetil

O micofenolato de monfetil é um inibidor potente, seletivo e reversível da desidrogenase do monofosfato de inosina, enzima crucial na síntese de guanina, estando os linfócitos B e T altamente dependentes desta via, pelo que este fármaco tem um efeito citostático significativo nestas células.

Disponível para uso médico há mais de 20 anos, a eficácia deste agente na NMP, ainda é uma incerteza, ao contrário do seu efeito comprovado no tratamento da nefrite lúpica.

O metabolito ativo do micofenolato de monfetil, o ácido micofenólico, apresenta um efeito bloqueador, suprimindo seletivamente a proliferação dos linfócitos T e B, a

formação de anticorpos e a glicosilação de moléculas de adesão através da sua inibição da síntese de nucleotídeos de purina em linfócitos e monócitos.

No entanto, apesar destes efeitos, que sugerem uma potencial eficácia deste fármaco, como opção terapêutica para a NMP, a atual evidência científica indica que este agente é ineficaz ou apenas temporariamente eficaz no tratamento da NM.

Azatioprina

Considerado um agente alternativo aos agentes alquilantes, devido aos seus reduzidos efeitos adversos, um estudo observacional prospetivo, com a aziotioprina, com um período de *follow-up* de 10 anos, não demonstrou eficácia na indução de remissão da proteinúria ou na evolução para insuficiência renal terminal³⁴.

As KDIGO *guidelines* não apresentam qualquer recomendação para o uso destes fármacos²⁶.

ACTH

Apesar de ainda não ser totalmente conhecido o modo como o ACTH induz remissão da proteinúria, um dos mecanismos propostos, está relacionado com a ativação do recetor da melanocortina presente nos podócitos⁹.

Em modelos animais de NMP, o uso de agonistas específicos do recetor da melanocortina, reduziu significativamente a proteinúria, o stress oxidativo e ainda melhorou a morfologia podocitária³⁸.

Na Europa, é usada ACTH sintética, enquanto que nos EUA, é usada uma outra fórmula, o HP Acthar gel⁹.

Ensaio clínicos europeus com ACTH sintética e estudos com a fórmula em gel de ACTH, nos EUA, suportam a eficácia deste fármaco no tratamento não só da NMP, mas também de outras patologias associadas ao desenvolvimento de síndrome nefrótica. No entanto, os resultados destes estudos sublinham a necessidade de alargar

os períodos de *follow-up*, de forma a aprofundar o conhecimento em relação a este fármaco.

As KDIGO *guidelines* referem que são necessários mais ensaios clínicos randomizados, para que haja recomendação para o uso de ACTH no tratamento da NMP²⁶.

Rituximab

Muito antes da descoberta do papel fundamental dos autoanticorpos anti-PLA2R na patogénese de cerca de 70% dos casos de NMP, dados de estudos animais demonstraram que a produção de anticorpos pelas células B auto-reativas, despoletavam uma série de eventos que resultavam em lesão da barreira de filtração glomerular e, conseqüentemente, desenvolvimento de proteinúria.

Estudos animais demonstraram a existência de vários agentes citotóxicos que interferem com a ativação das células B, promovendo proteção contra glomerulonefrites. No entanto, os regimes terapêuticos baseados no uso de agentes citotóxicos estão associados a elevada toxicidade, incluindo risco a longo prazo de desenvolvimento de malignidades. Ainda mais, a toxicidade é cumulativa, e em patologias que tenham tendência para recaídas, o aparecimento destes efeitos adversos é muito mais comum.

Assim, há muito que havia o desejo de descobrir uma alternativa menos tóxica e igualmente eficaz para o tratamento da NM.

No final dos anos 90, a disponibilidade de anticorpos monoclonais anti-CD20 providenciou uma nova e dirigida terapia para a depleção de linfócitos B periféricos e teciduais²⁴.

Aprovado para uso médico em 1997 para o tratamento do linfoma de células B, o rituximab, anticorpo monoclonal quimérico, que atua sobre o antígeno CD20, marcador presente na superfície das células B, passou a ser alvo de extensa investigação para avaliar o efeito da depleção de células B e conseqüente inibição da produção dos autoanticorpos nefrogénicos na melhoria do *outcome* de doentes com NMP, evitando os efeitos adversos associados a outros fármacos imunossupressores⁴.

No rituximab a depleção de células B é conseguida através de citotoxicidade mediada pelo complemento, pelas células e por apoptose.

O primeiro estudo a avaliar o efeito do rituximab na NM, ocorreu em 2002, Remuzzi et al. avaliaram o efeito da infusão de 375 mg/m² deste anticorpo, durante um período de quatro semanas, em oito doentes com síndrome nefrótica e NM refratária à terapêutica. O valor médio de proteínas presentes na urina decresceu de 8 g/dia para 3,7 g/dia em 20 semanas de *follow-up*, três dos doentes atingiram remissão completa e dois remissão parcial. A proteinúria decresceu mais de 50% em todos os doentes³⁹.

Desde então diversos estudos observacionais foram realizados, com um número mais alargado de doentes e com tempos de *follow-up* superiores⁴⁰.

As *guidelines* de 2012 não consideraram o rituximab como uma opção no tratamento da NMP, indicando na altura a necessidade de um maior número de ensaios clínicos com este fármaco²⁶.

Mais recentemente, novos estudos, levaram à ponderação que as *guidelines* de 2012, atualmente aceites para o tratamento da NM, e que não recomendam o uso do rituximab como tratamento de 1ª linha, podem já não se aplicar.

O GEMRITUX *Study Group* foram os primeiros a realizar um estudo clínico randomizado, comprovando a eficácia do rituximab no tratamento da NMP em comparação com a terapêutica de suporte não-imunossupressora⁴¹.

Publicado em 2017, este estudo clínico randomizado e controlado, com um curto período de follow-up (6 meses para o *endpoint* primário), comparou o efeito de duas doses de 375 mg/m² de rituximab, nos dias 1 e 8, com terapêutica conservadora não-imunossupressora, em doentes com diagnóstico de NMP e síndrome nefrótica. Todos os doentes receberam terapêutica convencional antiproteinúrica e 37 foram randomizados aleatoriamente para receber duas infusões de 375 mg/m² de rituximab. Do ponto de vista da medicina baseada na evidencia, este estudo foi desapontante, uma vez que não foi atingido o *endpoint* primário, definido como remissão parcial ou total da proteinúria aos 6 meses⁴¹.

No entanto, o desenho deste estudo foi claramente inadequado e não ajustado ao conhecimento atual que existe em relação à patogénia da NM e ao mecanismo de ação do rituximab⁴².

O rituximab reduz o número de células B, resultando num decréscimo gradual de anticorpos circulantes envolvidos na formação de imunocomplexos que se depositam no espaço subepitelial da MBG. No entanto, apesar do decréscimo súbito dos anticorpos circulantes, os depósitos imunes são *long-lived*, de tal modo que é expectável uma diminuição lenta e progressiva, quer da presença destes depósitos no rim, quer da proteinúria⁴².

Assim, este estudo falhou em atingir o *endpoint* primário, uma vez que apenas 35,1% dos doentes que receberam infusões de rituximab atingiram remissão completa ou parcial da proteinúria aos 6 meses, sobretudo devido ao curto período de *follow-up*. Tal foi comprovado, mais tarde, pelo estudo MENTOR, uma vez que nesse estudo não se verificou qualquer caso de remissão completa aos 6 meses⁴².

De tal forma que o estudo GEMRITUX disponibilizou uma análise *post hoc* com um *follow-up* médio de 17 meses desde a inclusão, onde se verificou que 64,9% dos doentes tratados com infusões de rituximab atingiram remissão completa ou parcial. Estes resultados obtidos foram coincidentes com os verificados posteriormente no estudo MENTOR⁴².

Mais tarde, o estudo *Membranous Nephropathy Trial of Rituximab* (MENTOR) comparou o efeito do rituximab com o da ciclosporina A, tratamento atualmente sugerido pelas *guidelines* de 2012, segundo o qual o rituximab evidenciou eficácia e segurança superiores⁴².

Neste estudo, foram aleatoriamente randomizados 130 doentes com diagnóstico de NMP, que apresentavam proteinúria de pelo menos 5g/dia, clearance de creatinina de pelo menos 40 ml/min/1,73m² e que receberam tratamento com bloqueadores do

sistema renina angiotensina aldosterona, durante pelo menos 3 meses. De seguida, 65 destes receberam infusões de rituximab e os restantes 65 ciclosporina oral. Ao fim de 24 meses de *follow-up*, verificou-se, que o rituximab não só não era inferior na indução de remissão parcial ou completa da proteinúria, como era superior em manter esta remissão ao fim de 24 meses. De facto, dos 65 doentes tratados com infusão de rituximab, 39 (60%) atingiram remissão completa ou parcial, em comparação com 34 (52%) dos medicados com ciclosporina oral e, no final dos 24 meses, 39 mantiveram a remissão ao contrário dos medicados com ciclosporina, em que apenas 13 (20%) mantiveram remissão⁴³.

De facto, o recente relatório do KDIGO *Controversies Conference* para o controlo e tratamento de patologias glomerulares concluiu que quase todas as recomendações das *guidelines* de 2012 em relação ao tratamento da NMP devem ser revistas, com base nos avanços e descobertas em relação à patogénia da doença, nomeadamente de anticorpos dirigidos para antígenos podocitários e também devido aos estudos e ensaios recentes⁴⁴.

Um estudo prospetivo, observacional realizado por van der Brand et al. comparou a segurança do rituximab com a do regime atualmente considerado como *gold standard* para o tratamento da NMP, ciclofosfamida e corticosteróides, chegando à conclusão que o perfil de segurança do rituximab era superior ao regime de Ponticelli, tendo os autores recomendado a substituição do regime recomendado atualmente nas *guidelines* pelo rituximab como terapêutica imunossupressora de 1ª linha no tratamento de doentes com NM e síndrome nefrótica⁴⁵.

No entanto, Peter Marckmann publicou uma carta alertando para alguns erros no desenho do estudo de van der Brand et al. e para a necessidade de estudos randomizados e controlados antes que a prática clínica seja alterada⁴⁶.

Uma questão ainda por resolver é a dose ideal de rituximab no tratamento da NMP.

Como referido anteriormente, o rituximab foi originalmente aprovado para o tratamento do linfoma e mais tarde da artrite reumatoide. Na terapêutica do linfoma era usada uma dose de 375 mg/m² semanalmente por um período de 4 semanas, enquanto que na artrite reumatóide eram aplicadas duas doses de 1g⁴².

Os regimes aplicados para o tratamento da NMP, usados nos estudos randomizados e controlados, limitaram-se a copiar e a adaptar estas doses testadas e comprovadas⁴².

No entanto a questão fundamental prende-se com a possibilidade de se aplicar uma dose menor no tratamento da NMP.

De facto, uma das limitações para o uso do rituximab é o seu custo, apesar de uma análise de custo-efetividade ter concluído que o rituximab não é mais caro que o tratamento *gold standard*, sendo inclusive mais barato ao longo da vida⁴⁷.

Para além disso, uma dose menor de rituximab poderia ser mais seguro, apesar de, quer o MENTOR, quer o GEMRITUX terem demonstrado o excelente perfil de segurança do rituximab⁴².

Pioneiros no uso do rituximab para o tratamento da NM, Ruggenti et al. há muito que advogam o uso de regimes de uma dose única de rituximab e que a segunda dose deve apenas ser aplicada consoante a depleção de células B e a resposta da proteinúria⁴².

Atualmente, aguardam-se os resultados de dois estudos randomizados e controlados, o RI-CYCLO, que procura avaliar a eficácia e a segurança do rituximab comparativamente com o regime de Ponticelli modificado (ciclofosfamida e corticosteróides) em 76 doentes com NMP e o estudo *Sequential therapy with*

Tacrolimus and Rituximab in Primary Membranous Nephropathy (STARMEN), que randomizou aleatoriamente 86 doentes com diagnóstico de NMP, para receber terapêutica sequencial com tacrolimus por 6-9 meses e uma dose única de rituximab (1000 mg i.v.) ou ciclofosfamida e corticosteróides, definindo como *endpoint* primário a proporção de doentes a atingir remissão completa ou parcial aos 24 meses⁴².

Os resultados destes estudos poderão, formalmente, esclarecer acerca do papel do rituximab no tratamento da NMP.

Conclusão

Desde os anos 50 do século passado que a NM tem sido alvo de intensa investigação clínica e laboratorial. Desde então, apesar do consenso em vários temas em relação a esta patologia, existem ainda algumas discrepâncias entre os diversos autores.

Nos últimos anos, foram feitas várias descobertas fundamentais não só para compreender melhor a patogenia da NM, mas também para estabelecer o prognóstico dos doentes com NM e assim definir estratégias de tratamento que impeçam a deterioração progressiva da função renal destes para insuficiência renal terminal. Particularmente a descoberta do carácter autoimune desta patologia, do papel das células B na produção de autoanticorpos para determinados antigénios presentes nos podócitos glomerulares e subsequente identificação destes antigénios.

Apesar destes avanços, o carácter variável desta glomerulopatia, principal causa de síndrome nefrótica primária em adultos caucasianos, dificulta a distinção entre doença progressiva e não-progressiva, que tem incentivado um intenso debate acerca do esquema terapêutico ideal para doentes com NM e síndrome nefrótica.

Apesar do consenso generalizado quanto ao uso de terapia de suporte, de modo a reduzir a proteinúria e complicações associadas, a terapêutica imunossupressora sempre foi altamente debatida devido aos significativos efeitos adversos associados.

Em 2012, foram publicadas as KDIGO *guidelines* apresentando recomendações acerca tratamento para a NMP, que não consideravam o rituximab, apesar de evidência clínica quanto à sua eficácia e segurança, uma vez que ainda não tinham sido realizados ensaios clínicos formais. De acordo com estas *guidelines* sugeriam o uso do regime de Ponticelli modificado (ciclofosfamida/esteróides) como terapêutica de 1ª linha no tratamento da NMP.

Desde então, a identificação dos alvos antigénios podocitários para os autoanticorpos em circulação, a publicação de vários estudos observacionais retrospectivos comparando a eficácia e segurança do rituximab com a ciclofosfamida/esteróides e, sobretudo de dois ensaios clínicos randomizados e controlados, o GEMRITUX e o MENTOR, que providenciaram evidência conclusiva quanto ao perfil de segurança e eficácia do rituximab na indução de remissão completa ou parcial da síndrome nefrótica em doentes com NMP.

De tal modo, que KDIGO *Controversies Conference* concluíram que quase todas as recomendações nas *guidelines* de 2012 para o tratamento da NM, devem ser reavaliadas.

Assim, o rituximab parece ser uma alternativa eficaz e segura para o tratamento da NMP, de tal forma que alguns autores recomendam que este anticorpo monoclonal deve ser considerado terapêutica de 1ª linha.

Apesar da evidência científica existente, vários autores consideram, ainda, que são necessários mais ensaios controlados randomizados comparando o regime de Ponticelli modificado e o rituximab para que este possa ser considerado definitivamente a terapia de 1ª linha e também para determinar a dose ideal de rituximab.

Atualmente, dois ensaios randomizados e controlados, o RI-CYCLO e o STARMEN, completados em 2019, poderão brevemente esclarecer definitivamente o papel do rituximab no tratamento da NMP.

Bibliografia

1. Fervenza F.C. et al. (2008). "Idiopathic membranous nephropathy: diagnosis and treatment." *Clin J Am Soc Nephrol* 3(3): 905–919.
2. Ronco, P. & Debiec, H. (2015). "Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's care." *Lancet* 385(9981): 1983-1992.
3. Trujillo, H. & Praga, M. (2019). Membranous nephropathy: an update. *Portuguese Journal of Nephrology & Hypertension* 33(1): 19-27.
4. Ruggenenti, P. et al. (2017). "Treatment of membranous nephropathy: time for a paradigm shift." *Nat Rev Nephrol* 13(9): 563-579.
5. Couser, W.G. (2017). "Primary Membranous Nephropathy." *Clin J Am Soc Nephrol* 12(6): 983-997.
6. Glassock, R.J. (2003). "Diagnosis and natural course of membranous nephropathy." *Semin Nephrol* 23(4): 324-332.
7. Lai, W.L. et al. (2015). "Membranous nephropathy: a review on the pathogenesis, diagnosis, and treatment." *J Formos Med Assoc* 114(2): 102-111.
8. Coggins, C.H. et al. (1979). A controlled study of short-term prednisone treatment in adults with membranous nephropathy. Collaborative Study of the Adult Idiopathic Nephrotic Syndrome." *N Engl J Med* 301(24): 1301-1306.
9. van de Logt, A.E. et al. (2016). "Pharmacological treatment of primary membranous nephropathy in 2016." *Expert Rev Clin Pharmacol* 9(11): 1463-1478.
10. Glassock, R.J. (2010). "The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey." *Am J Kidney Dis* 56(1): 157-167.
11. Starzynska-Kubicka, A. et al. (2018). "Membranous glomerulonephritis - a common, unspecific pattern of glomerular injury." *Pol J Pathol* 69(3): 209-218.
12. Kerjaschki, D. (2004). "Pathomechanisms and molecular basis of membranous glomerulopathy." *Lancet* 364(9441): 1194-1196.

13. Debiec, H. et al. (2002). "Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies." *N Engl J Med* 346(26): 2053-2060.
14. Beck, L.H. Jr. et al. (2009). "M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy." *N Engl J Med* 361(1): 11-21.
15. Tomas, N.M. et al. (2014). "Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy." *N Engl J Med* 371(24): 2277-2287.
16. Stanescu, H.C. et al. (2011). "Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy." *N Engl J Med* 364(7): 616-626.
17. Barbour, S. et al. (2013). "Short-term complications of membranous nephropathy." *Contrib Nephrol* 181: 143-151.
18. Ponticelli, C. & Glassock, R.J. (2014). "Glomerular diseases: membranous nephropathy--a modern view." *Clin J Am Soc Nephrol* 9(3): 609-616.
19. van den Brand, J.A. et al. (2012). "Prognostic value of risk score and urinary markers in idiopathic membranous nephropathy." *Clin J Am Soc Nephrol* 7(8): 1242-1248.
20. Noel, L.H. et al. (1979). "Long-term prognosis of idiopathic membranous glomerulonephritis. Study of 116 untreated patients." *Am J Med* 66(1): 82-90.
21. Donadio, J.V. Jr. et al. (1988). "Idiopathic membranous nephropathy: the natural history of untreated patients." *Kidney Int* 33(3): 708-715.
22. Pei, Y. et al. (1992). "Predicting chronic renal insufficiency in idiopathic membranous glomerulonephritis." *Kidney Int* 42(4): 960-966.
23. Branten, A.J. et al. (2005). "Urinary excretion of beta2-microglobulin and IgG predict prognosis in idiopathic membranous nephropathy: a validation study." *J Am Soc Nephrol* 16(1): 169-174.
24. Bomback, A.S. & Fervenza F.C. (2018). "Membranous Nephropathy: Approaches to Treatment." *Am J Nephrol* 47 Suppl 1: 30-42.
25. De Vriese, A.S. et al. (2017). "A Proposal for a Serology-Based Approach to Membranous Nephropathy." *J Am Soc Nephrol* 28(2): 421-430.

26. Group KDIGO. (2012). "KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis." *Kidney Int Suppl* 2(2):186–197.
27. Arabi, Z. (2012). "Membranous nephropathy: Treatment outline and risk stratification." *Avicenna J Med* 2(3): 60-64.
28. Cattran, D.C. et al. (1989). "A randomized controlled trial of prednisone in patients with idiopathic membranous nephropathy." *N Engl J Med* 320(4): 210-215.
29. Cameron, J.S. et al. (1990). "The Medical Research Council trial of short-term high-dose alternate day prednisolone in idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome in adults. The MRC Glomerulonephritis Working Party." *Q J Med* 74(274): 133-156.
30. Ponticelli, C. et al. (1984). "Controlled trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy." *N Engl J Med* 310(15): 946-950.
31. Ponticelli, C. et al. (1995). "A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy." *Kidney Int* 48(5): 1600-1604.
32. Ponticelli, C. et al. (1998). "A randomized study comparing methylprednisolone plus chlorambucil versus methylprednisolone plus cyclophosphamide in idiopathic membranous nephropathy." *J Am Soc Nephrol* 9(3): 444-450.
33. Jha, V. et al. (2007). "A randomized, controlled trial of steroids and cyclophosphamide in adults with nephrotic syndrome caused by idiopathic membranous nephropathy." *J Am Soc Nephrol* 18(6): 1899-1904.
34. Angioi, A. et al. (2018). "Treatment of primary membranous nephropathy: where are we now?" *J Nephrol* 31(4): 489-502.
35. Cattran, D.C. et al. (1995). "A controlled trial of cyclosporine in patients with progressive membranous nephropathy. Canadian Glomerulonephritis Study Group." *Kidney Int* 47(4): 1130-1135.

36. Cattran, D.C. et al. (2001). "Cyclosporine in patients with steroid-resistant membranous nephropathy: a randomized trial." *Kidney Int* 59(4): 1484-1490.
37. Praga, M. et al. (2007). "Tacrolimus monotherapy in membranous nephropathy: a randomized controlled trial." *Kidney Int* 71(9): 924-930.
38. Lindskog, A. et al. (2010). "Melanocortin 1 receptor agonists reduce proteinuria." *J Am Soc Nephrol* 21(8): 1290-1298.
39. Remuzzi, G. et al. (2002) "Rituximab for idiopathic membranous nephropathy." *The Lancet* 360: 923–924.
40. Cattran, D. & Brenchley P. (2017). "Membranous nephropathy: thinking through the therapeutic options." *Nephrol Dial Transplant* 32(1): 22-29.
41. Dahan, K. et al. (2017). "Rituximab for Severe Membranous Nephropathy: A 6-Month Trial with Extended Follow-Up." *J Am Soc Nephrol* 28(1): 348-358.
42. Rojas-Rivera, J.E. et al. (2019). "Treatment of idiopathic membranous nephropathy in adults: KDIGO 2012, cyclophosphamide and cyclosporine A are out, rituximab is the new normal." *Clin Kidney J* 12(5): 629-638.
43. Fervenza, F.C. et al. (2019). "Rituximab or Cyclosporine in the Treatment of Membranous Nephropathy." *N Engl J Med* 381(1): 36-46.
44. Floege, J. et al. (2019). "Management and treatment of glomerular diseases (part 1): conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference." *Kidney Int* 95(2): 268-280.
45. van den Brand, J. et al. (2017). "Safety of Rituximab Compared with Steroids and Cyclophosphamide for Idiopathic Membranous Nephropathy." *J Am Soc Nephrol* 28(9): 2729-2737.
46. Marckmann, P. (2018). "Rituximab better for idiopathic membranous nephropathy?" *Nephrology (Carlton)* 23(7): 706-707.
47. Hamilton, P. et al. (2018). "Rituximab versus the modified Ponticelli regimen in the treatment of primary membranous nephropathy: a Health Economic Model." *Nephrol Dial Transplant* 33(12): 2145-2155.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço profundamente ao professor doutor Manuel Pestana, orientador desta revisão, pela receptividade, disponibilidade, paciência e apoio incondicional. Não tenho maneira de expressar apropriadamente o sentimento de gratidão por ter aceitado orientar-me neste projeto, por me ter indicado o tema e sobretudo pela disponibilidade para me orientar que demonstrou mesmo depois de eu não ter sido um orientando assíduo e dos constrangimentos derivados da pandemia de COVID-19, que sobrecarregou todos os profissionais de saúde.

Agradeço a todos os profissionais da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto que ao longo do meu trajeto ao longo do curso de Mestrado Integrado em Medicina, pelos ensinamentos e sabedoria que me transmitiram.

Agradeço aos meus pais, por fazerem de mim o homem que sou, pelo apoio incondicional que me suporta todos os dias, por me terem dado todas as condições para ter sucesso e por serem o meu pilar essencial. Espero que tenham orgulho em mim.

Agradeço ao meu irmão, que mesmo à distância nunca deixou de me incentivar e motivar a atingir os meus objetivos e por ser o primeiro a aparecer quando preciso.

Agradeço ao meu primo, porque sem a sua companhia diária este caminho teria sido muito mais difícil.

Agradeço à minha namorada por acreditar sempre em mim, por me transmitir diariamente carinho e suporte indescritíveis e por me dizer sempre a verdade, sobretudo quando preciso de ouvir.

Por fim agradecer à pessoa que é o grande motivo de eu estar neste curso, ao meu padrinho e avô, o “Zeca Bicho”, que apesar de não estar entre nós, rezo para que esteja a ver, com um sorriso de orelha a orelha, perna cruzada, a disfrutar deste momento e a dizer: “É meu neto”.

Anexos

- ✓ Normas da revista: Arquivos de Medicina

Instruções aos Autores

Estas instruções seguem os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (disponível em URL: www.icmje.org).

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa.

O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências.

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

Os comentários não devem apresentar resumos.

Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet.

O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título.

Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção. Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés. Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra. Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

Autoria

Como referido nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial (www.wma.net).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou χ^2 , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de p=NS, p<0,05 ou p>0,05, na medida em que a informação contida no valor de P pode ser importante. Nos casos em

que o valor de p é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como $p < 0,0001$.

Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência:

*, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parentesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências.

Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

1. Artigo

• Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreaticobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

2. Artigo com Organização como Autor

• The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

• Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

4. Artigo publicado em Número com Suplemento

payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

5. Livro

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

7. Livro (Organização como Autor e Editor)

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

8. Capítulo de Livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

9. Artigo em Formato Electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adoptado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

Carta de apresentação

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA
Faculdade de Medicina do Porto
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada duma carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

MANUSCRITOS ACEITES

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word[®], formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de gralhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.