



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Miguel Ernandes Neto

**Desfechos da descontinuidade não planejada
do Eculizumabe na Síndrome Hemolítico
Urêmica Atípica após escassez no Brasil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade

**Botucatu
2021**

Desfechos da descontinuidade não planejada do Eculizumabe na Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica após escassez no Brasil

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador

Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade

M636d Miguel, Ernandes Neto
Desfechos da descontinuidade não planejada do Eculizumabe na Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica após escassez no Brasil / Ernandes Neto Miguel. -- Botucatu, 2021
84 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientador: Luis Gustavo Modelli de Andrade

1. Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica. 2. Descontinuação da terapia com eculizumabe. I.

Título.
Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Medicina, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Este trabalho está sendo desenvolvido na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP).

Botucatu
2021

“(...) Queres que te diga o que penso, Diz, Penso que não cegámos, penso que estamos cegos, Cegos que veem, Cegos que, vendo, não veem.

A mulher do médico levantou-se e foi à janela. Olhou para baixo, para a rua coberta de lixo, para as pessoas que gritavam e cantavam. Depois levantou a cabeça para o céu e viu-o todo branco, Chegou a minha vez, pensou. O medo súbito fê-la baixar os olhos. A cidade ainda ali estava.”

*José Saramago em *Ensaio Sobre a Cegueira**

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT.....	XV
TOMO I.....	1
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA SÍNDROME HEMOLÍTICO URÊMICA ATÍPICA.....	2
1.2. ENVOLVIMENTO DO SISTEMA COMPLEMENTO NA SHUA.....	2
1.3. O USO DO ECVLIZUMABE NA SHUA	4
1.4. A DESCONTINUIDADE DO ECVLIZUMABE	6
1.5. O CENÁRIO BRASILEIRO	6
1.6. CENÁRIO PARA PESQUISA CLÍNICA	8
2. OBJETIVOS.....	9
2.1. OBJETIVO PRIMÁRIO	9
2.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	9
3. PACIENTES E MÉTODOS	10
3.1. PACIENTES E DESENHO DO ESTUDO	10
3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	10
3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	11
3.4. DADOS COLETADOS.....	11
3.4.1. <i>Dados clínicos</i>	11
3.4.2. <i>Análise genética</i>	11
3.5. DESFECHO PRIMÁRIO E DESFECHOS CLÍNICOS.....	12
3.5.1. <i>Desfecho primário: Recidiva</i>	12
3.6.1. <i>Desfechos clínicos</i>	12
3.6. APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA	13
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	13
4. RESULTADOS.....	14
4.1. CARACTERÍSTICAS DE BASE E GENÉTICAS DOS PACIENTES E EPISÓDIOS DE EXPOSIÇÃO DE RISCO. 14	
4.2. ACHADOS RELACIONADOS ÀS RECIDIVAS.....	20
5. DISCUSSÃO	28
5.1. DISCUSSÃO DOS ACHADOS	28
5.2. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	30

6. CONCLUSÃO	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
8. ANEXOS	36
8.1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	36
8.2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	39
8.3. TERMO DE PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA CLÍNICA	41
8.4. FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	42
9. APÊNDICES.....	47
9.1. DESCRIÇÃO DA TÉCNICA DE PAINEL PARA SHUA	47
TOMO II	48
A) ARTIGO: “ECULIZUMAB INTERRUPTION IN ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME DUE TO SHORTAGE: ANALYSIS OF A BRAZILIAN COHORT”, PUBLICADO NA REVISTA <i>JOURNAL OF NEPHROLOGY</i> EM JANEIRO DE 2021 (DOI 10.1007/s40620-020-00920-z).....	49
B) CONVITE PARA AUTOR DO CAPÍTULO, JÁ ESCRITO E ENTREGUE À EDITORA: “AVALIAÇÃO LABORATORIAL NAS MICROANGIOPATIAS TROMBÓTICAS” NO LIVRO, AINDA NÃO PUBLICADO “AVALIAÇÃO LABORATORIAL EM NEFROLOGIA – MANUAL PRÁTICO PARA USO DIÁRIO AMBULATORIAL E HOSPITALAR ORGANIZADO PELA PROFA. DRA. GIANNA MASTROIANNI KIRSZTAJN – UNIFESP (2020) 57	
C) APRESENTAÇÃO ORAL DO TRABALHO “RECIDIVA EM SÍNDROME HEMOLÍTICO URÊMICA ATÍPICA APÓS DESCONTINUIDADE NÃO PLANEJADA DA TERAPIA COM ECULIZUMABE: RESULTADOS PARCIAIS DA ESCASSEZ DA DROGA NO BRASIL” NO XX CONGRESSO PAULISTA DE NEFROLOGIA EM ATIBAIA - SP. (2019)	61
D) PUBLICAÇÃO DE ARTIGO ORIGINAL “HISTOPATHOLOGICAL FEATURES OF THROMBOTIC MICROANGIOPATHIES IN RENAL BIOPSIES” NA REVISTA <i>JOURNAL OF NEPHROPATHOLOGY</i> (2019) ...	62
E) PUBLICAÇÃO DE RESUMO DO TRABALHO “ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME RELAPSE AFTER UNPLANNED ECULIZUMAB THERAPY DISCONTINUATION: RESULTS OF A BRAZILIAN SHORTAGE” APRESENTADO NO CONGRESSO ERA-EDTA REALIZADO EM BUDAPESTE – HUNGRIA EM SUPLEMENTO DA REVISTA <i>NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION</i> . (2019).....	68
F) APRESENTAÇÃO DO TRABALHO “ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME RELAPSE AFTER UNPLANNED ECULIZUMAB THERAPY DISCONTINUATION: RESULTS OF A BRAZILIAN SHORTAGE”, NO FORMATO DE PÔSTER, NO CONGRESSO ERA-EDTA REALIZADO EM BUDAPESTE – HUNGRIA. (2019) 69	

AGRADECIMENTOS

A minha família: minha mãe Adalmira Pinhel Ernandes, meu pai Miguel Ernandes Filho, minha irmã Tatiana Ernandes Barbosa, meu cunhado Tarcísio Barbosa e minha sobrinha Laura Ernandes Barbosa por fornecer combustível ao meu grande projeto, a vida.

Ao meu grande amor Danilo Euclides Fernandes por compartilhar todo conhecimento em ciência, tecnologia, cultura, tempo e afeto.

A minha cachorra Shakira pelo companheirismo e ensinamentos sobre simplicidade e amor.

A meu orientador Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade por todos ensinamentos científicos e empenho em minha formação acadêmica.

Aos meus mestres da Nefrologia FMB-UNESP Profa. Dra. Jacqueline Caramori, Profa. Dra. Vanessa Santos Silva, Profa. Dra. Daniela Ponce, Profa. Dra. Maria Fernanda de Carvalho (*in memoriam*), Profa. Dra. Carmen Amaro, Profa. Dra. Rosa Vieira, Prof. Dr. Luís Cuadrado, Prof. Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade, Prof. Dr. João Henrique Castro, Prof. Dr. Luís Cuadrado, Prof. Dr. André Balbi, Prof. Dr. Alexandre Coelho, Prof. Dr. Francisco Habermann, Prof. Dr. Roberto Franco e Prof. Dr. Pasqual Barretti por me ensinar, com excelência, a arte de um ofício.

Aos meus mestres da Clínica Médica FMB-UNESP Profa. Dra. Paula Gaiolla, Profa. Dra. Daniela Rezende, Profa. Marina Okoshi, Prof. Dr. Luis Matsubara, Prof. Dr. Marcos Minicucci, Prof. Dr. Sergio Paiva, Prof. Dr. Roberto Minoru e Prof. Dr. Leonardo Zornoff por me ensinar a adquirir e atualizar os conhecimentos técnicos na profissão médica.

À Profa. Dra. Gláucia Mazeto (Endocrinologia) por me fazer enxergar o brilho na Medicina e me introduzir à ciência.

Aos amigos e parceiros de residência em Nefrologia Mariana Contti e Rodrigo Hageman pelo companheirismo e por transformar momentos tão difíceis de trabalho e aprendizado em extrema alegria.

A todos os colaboradores deste trabalho Lucas de Moraes Soler, Halita Vieira Gallindo Vasconcelos, Hong Si Nga, Ariane Moyses Bravin, Julio Cesar

Andriotti Borges, Rodrigo Costa Gonçalves, Rodrigo Brum Von Kriiger, Raquel Martins Quinino, Viviane Brandão Santana, Maria Izabel de Holanda, Maria Helena Vaisbich, Alice Pignaton Naseri, Gianna Mastroianni Kirsztajn, Lilian Palma, Luís Gustavo Modelli de Andrade pelo esforço em torná-lo possível.

Aos colegas de exercício Raquel Siqueira, Germana Brito, Carla Bernardi, Priscila Ligeiro Esper, Marcella Frediani, Naira Oliveira, Ruana Girardi, Maria Regina Araújo, Alessandra Conde Ferreira, Camila Bastos Sanches, Fabio Simões Lopes, Adriano Sanjuan, Cícero Alves, Francisco Mattedi, João Egídio Romão, Hugo Abensur, Giovânio Vieira, André Luiz Potratz, Cristina Gazeta, Guilherme Santa Catarina, Rolf Passos, Renato Watanabe, Júlio Cesar Andriotti Borges, Jordan Vasconcellos, Marcelo Valério Alabarce da Silva, Rafael Gusson, Anderson Simabuco Kohatsu e Tales Dantas Vieira por compartilhar angústias e ensinamentos na prática da Nefrologia.

À toda equipe da Faculdade de Medicina de Botucatu, Hospital das Clínicas de Botucatu, Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, Fresenius Medical Care, Hospital IGESP e consultório por dividir comigo o espaço de aprendizado e exercício profissional.

Ao amigo Daniel Lucas Conceição Costa pelo companheirismo e ensinamentos científicos.

À amiga Renata Midori Hirosawa pelo companheirismo na residência de Clínica Médica que se mantém ainda vivo na prática de consultório.

À Geraldina Africo pelo carinho que cuida da minha casa e de mim.

Aos grandes professores que me cercam Adriano Pires (educador físico), Simone Manetti (professora de língua inglesa) e Christian Buchhaas (músico) por manter minha rotina um eterno aprendizado de habilidades.

A todos os pacientes com doenças raras pela luta diária pela existência.

Aos livros que li, filmes que vi, músicas que ouvi, pinturas e esculturas que apreciei, lugares em que estive, pessoas que conheci e lágrimas choradas por me manter humano.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do estudo.....	14
Figura 2. Incidência cumulativa <i>One minus</i> de evento (recidiva de SHUa) ao longo do tempo de exposição.....	21
Figura 3. Desfechos clínicos ao longo do tempo para cada episódio de exposição de risco.	22
Figura 4. Preditores independentes de recidiva após descontinuidade do eculizumabe em análise multivariada com regressão de Cox.....	25
Figura 5. Incidência cumulativa comparativa de recidiva em pacientes com ou sem CFH.....	26
Figura 6. Incidência cumulativa comparativa de recidiva em pacientes transplantados e não transplantados.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mutações relacionadas às formas hereditárias de SHUa.....	4
Tabela 2. Esquema de terapia com eculizumabe na SHUa.....	5
Tabela 3. Características dos pacientes de acordo com o episódio de exposição de risco pela descontinuidade do eculizumabe.....	15
Tabela 4. Características dos pacientes que tiveram a terapia com eculizumabe descontinuada.	17
Tabela 5. Comparação de características de todos os episódios, episódios que não apresentaram e episódios que apresentaram recidivas.	23
Tabela 6. Preditores independentes de recidiva após descontinuidade do eculizumabe em análise multivariada com regressão de Cox.....	24

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADAMTS13	<i>A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1 like domains</i>
anti - CFH	Anticorpo contra fator H
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C3	Proteína C3 do complemento
C3a	Fração C3a de C3
C3b	Fração C3b de C3
C5	Proteína C5 do complemento
C5b9	Complexo proteico C5b9 ou Complexo de Ataque à Membrana
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CD141	Proteína CD141
CD46	Proteína CD46
CFB	Cofator B
CFH	Fator H
CFHR1	Proteína relacionada ao Fator H – 1
CFHR2	Proteína relacionada ao Fator H – 2
CFHR3	Proteína relacionada ao Fator H – 3
CFHR4	Proteína relacionada ao Fator H – 4
CFHR5	Proteína relacionada ao Fator H – 5
CFI	Fator I
DF	Distrito Federal
DGKE	Diacilglicerol quinase épsilon
DP	Desvio padrão
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Hib	Vacina contra <i>Haemophilus influenzae</i> do serotipo B
HR	<i>Hazard ratio</i> (Risco Relativo)
IC	Intervalo de confiança
INF-2	Formina invertida 2

KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
MAT	Microangiopatia trombótica
MCP	Proteína cofator de membrana
MenACW135Y	Vacina meningocócica conjugada tetravalente
MenB	Vacina contra meningococo B
NCT	<i>National Clinical Trial</i>
PIGA	Âncora de fosfatidilinositol glicano
Pn13	Vacina contra pneumococo 13
Pn23	Vacina contra pneumococo 23
PTT	Púrpura Trombocitopênica Trombótica
SHUa	Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica
STEC-SHU	Síndrome Hemolítico Urêmica associada à <i>Escherichia coli</i> produtora de Shigatoxina
TCLE	Termo de consentimento livre esclarecido
THBD	Trombomodulina

RESUMO

Introdução: O risco da descontinuação da terapia com eculizumabe em pacientes com Síndrome Hemolítica Urêmica Atípica (SHUa) ainda não é claro. O principal objetivo deste estudo foi analisar o risco de recidiva de SHUa após a descontinuação do eculizumabe após período de desabastecimento da droga no Brasil.

Métodos: Rastreamos todos os centros de diálise cadastrados no Brasil (n=800) interessados em participar no estudo de coorte de SHUa brasileira após desabastecimento através de correspondência eletrônica e convite formal pela Sociedade Brasileira de Nefrologia. Incluímos pacientes com SHUa que descontinuaram, de forma não planejada, a terapia com eculizumabe por pelo menos 30 dias, entre 1 de janeiro de 2016 e 31 de dezembro de 2019, durante a fase de manutenção do tratamento. Definimos recidiva como apresentação de trombocitopenia, anemia hemolítica, injúria renal aguda ou microangiopatia trombótica em biópsia renal.

Resultados: Analisamos 25 episódios de exposição de risco em 24 pacientes. A mediana da idade foi 33 (6 – 53) anos, 18 (72%) eram mulheres, 9 (36%) tinham enxerto renal funcional, (20%) estavam em diálise. Variantes em *CFH* foram encontradas em 8 (32%) episódios. Encontramos 11 casos de recidiva. O risco de recidiva foi de 34%, 44,5% e 58% em 114, 150 e 397 dias, respectivamente. Nenhuma característica de base foi relacionada a recidiva em análise multivariada de Cox, incluindo variante em *CFH*.

Conclusão: Neste estudo, a incidência cumulativa de recidiva de SHUa em 397 dias foi de 58% após a descontinuação do eculizumabe. A presença de variante genética do complemento não foi associada com maior taxa de recidiva.

Palavras chave: Síndrome Hemolítica Urêmica Atípica; Eculizumabe; Agentes inibidores do Complemento

ABSTRACT

Background: The risk of eculizumab therapy discontinuation in patients with atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is unclear. The main objective was to analyze the risk of aHUS relapse after unplanned eculizumab discontinuation due to a Brazilian shortage.

Methods: We screened all the registered dialysis centers in Brazil (n=800) willing to participate in the aHUS Brazilian shortage cohort through electronic mail and formal invitation by the Brazilian Society of Nephrology. We included patients with aHUS whose eculizumab therapy had unplanned discontinuation for at least 30 days, between January 1, 2016 and December 31, 2019 during the maintenance phase of treatment. Relapse was defined by the development of thrombocytopenia, hemolytic anemia, acute kidney injury or thrombotic microangiopathy in kidney biopsy.

Results: We analyzed 25 episodes of exposure to risk of relapse from 24 patients. The median age was 33 (6 – 53) years, 18 (72%) were female, 9 (36%) had a functioning renal graft, 5 (20%) were undergoing dialysis. *CFH* variant has been found in 8 (32%) episodes. There were 11 cases of relapses. The risk of relapse was 34%, 44.5% and 58% at 114, 150 and 397 days, respectively. No baseline variables were related to relapse in Cox multivariate analysis, including *CFH* variant.

Conclusions: In this study, the cumulative incidence of aHUS relapse at 397 days was 58% after eculizumab discontinuation. The presence of complement variant was not associated with a higher relapsing rate.

Keywords: Atypical Hemolytic Uremic Syndrome; eculizumab; Complement Inactivating Agents

TOMO I

1. INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação clínica da Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica

A Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica (SHUa) é uma doença ultrarrara, com incidência aproximada de 0,5 paciente por milhão por ano, caracterizada por injúria renal aguda, trombocitopenia e anemia hemolítica não imune[1].

SHUa é a manifestação fenotípica de uma atividade desregulada da via alternativa do sistema complemento que leva a um dano à superfície do endotélio da microvasculatura, levando à Microangiopatia Trombótica (MAT)[2].

MAT é uma entidade histopatológica secundária a dano endotelial, caracterizada por presença de trombos de fibrina e plaquetas. Os achados histológicos da MAT associada a SHUa são indistinguíveis de outras etiologias, como Síndrome Hemolítico Urêmica associada à *Escherichia coli* produtora de Shigatoxina (STEC-SHU), Síndrome Hemolítico Urêmica associada à infecção por pneumococo, Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) ou ainda causas secundárias (MAT associada a gestação, hipertensão maligna, rejeição associada a anticorpos em transplante renal ou associada a drogas, por exemplo)[3][4][5].

Os achados clínico-laboratoriais das MAT são trombocitopenia, anemia hemolítica não imune (queda de hemoglobina, presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico, consumo de haptoglobina, aumento de lactato desidrogenase sérico e pesquisa de COOMBS direto negativo) e lesão de órgão alvo, mais comumente lesão renal ou de sistema nervoso central. Os achados histológicos em biópsias renais nas MAT podem ser: microtrombos em glomérulos ou arteríolas, edema endotelial, achados compatíveis com isquemia renal (necrose tubular aguda ou necrose cortical) ou, em casos crônicos, duplicidade de membrana basal glomerular conferindo um padrão de Glomerulonefrite Membrano-proliferativa[3][4][5][6].

1.2. Envolvimento do sistema complemento na SHUa

O sistema complemento é parte da resposta imune inata e é composto por mais de 30 proteínas, podendo ser ativado por três diferentes vias (via clássica, via da lecitina e via alternativa). Essas três vias de ativação levam a uma via comum de reações que se inicia pela hidrólise de C3, clivando essa proteína em C3a e C3b. Este é o ponto inicial da via alternativa, em que C3a participa de reações de anafilaxia fraca enquanto C3b pode se refazer em C3, graças ao complexo enzimático C3-convertase, ou dar continuidade às reações terminais do sistema complemento. Quando um gatilho é gerado e leva à amplificação das reações, há a formação do complexo de ataque à membrana (C5b9). Várias proteínas controlam a atividade da via alternativa do sistema complemento, tanto na superfície endotelial (por exemplo, proteína cofator de membrana - MCP/CD46), quanto em fase fluida (proteínas séricas), onde o fator H do complemento (CFH) é o principal regulador[7][8][9][10][11].

Na SHUa, existe uma hiperatividade da via alternativa que leva a uma produção desregulada do complexo C5b9, com consequente lesão da superfície endotelial, o que resulta em MAT. Em pelo menos 50% dos pacientes com SHUa é possível encontrar alterações genéticas ou autoimune que levam ao descontrole do sistema complemento[1][2]. Além de formas autoimune relacionadas a anticorpos contra CFH (anti - CFH), por exemplo, a SHUa pode se apresentar sob formas hereditárias devido a mutações em genes que codificam proteínas regulatórias do sistema complemento. As mutações na SHUa podem ser divididas em: 1 – perda de função de reguladores do complemento; 2 – ganho de função de ativadores do complemento; 3 – fenótipo de SHUa associado a mutações não relacionadas ao complemento[8][11]. A tabela 1 traz exemplos de mutações conhecidas na SHUa.

Tabela 1. Mutações relacionadas às formas hereditárias de SHUa

Tipo de mutação	Proteína codificada pelos genes mutados
Perda de função de reguladores do complemento	Fator H (CFH)
	Proteínas relacionadas ao fator H (CFHR1, CFHR2, CFHR3, CFHR4, CFHR5)
	Proteína cofator de membrana (MCP /CD46)
	Fator I (CFI)
	Trombomodulina (THBD /CD141)
Ganho de função de ativadores do complemento	C3
	Cofator B (CFB)
Mutações não relacionadas ao complemento	Diacilglicerol quinase épsilon (DGKE)
	Plasminogênio
	Formina invertida 2 (INF-2)

1.3. O uso do Eculizumabe na SHUa

Antes da aprovação do eculizumabe, o risco de desfecho desfavorável (morte ou Doença Renal Crônica com necessidade de permanência em diálise) era de 79% em 3 anos após o diagnóstico de SHUa[10]. Em 2011, o Eculizumabe foi aprovado para o tratamento da SHUa pelo FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos da América e pelo EMA (*European Medicine Agency*) na Europa. Até então, o tratamento para SHUa era limitado a plasmaférese e infusão de plasma, com desfechos muito ruins, exceto para casos associados a anticorpo contra fator H que poderiam apresentar algum benefício. O eculizumabe um anticorpo monoclonal humanizado com alta afinidade ao componente C5 do complemento, impedindo a formação de complexo C5b9. O bloqueio da porção terminal do sistema complemento evita dano à célula endotelial e progressão para MAT[12][13][14][15].

Estudos prospectivos com uso de eculizumabe no tratamento da SHUa têm mostrado resultados positivos em relação a eficácia e segurança da droga. Esses estudos avaliaram melhor resposta em pacientes com clínica de MAT evidente (MAT em progressão) em relação a recuperação de função renal, recuperação de níveis de plaquetas e hemoglobina. Já pacientes em fases mais crônicas da doença, adultos e crianças, apresentaram resposta inferior em relação à recuperação de função renal. A melhora de qualidade de vida também

foi associado à terapia com eculizumabe em pacientes com SHUa[15][16][17][18]. O uso do eculizumabe profilático no transplante renal tem se mostrado útil na prevenção de recidiva de SHUa no enxerto renal, muitas vezes evitando a perda de função do enxerto[19][20].

Os estudos com eculizumabe utilizaram esquemas baseados na bula do medicamento Soliris®, comercializado pela empresa Alexion Farmacêutica, e é indicado o uso contínuo da droga. Cada frasco de Soliris® possui 300mg em 30mL, e a dose deve ser realizada em infusão endovenosa durante 25 - 45 minutos, uma vez por semana durante fase de indução. A tabela 2 mostra os esquemas de uso do eculizumabe baseado no peso do paciente, em fase de indução e fase de manutenção, conforme orientação de bula e estudos clínicos em adultos e crianças[15][17].

Tabela 2. Esquema de terapia com eculizumabe na SHUa.

Peso (kg)	Indução	Manutenção
≥ 40	900mg/semana durante 4 semanas 1200mg na 5ª semana	1200mg a cada 2 semanas
30 a < 40	600mg/semana durante 2 semanas 900mg na 3ª semana	900mg a cada 2 semanas
20 a < 30	600mg/semana durante 2 semanas 600mg na 3ª semana	600mg a cada 2 semanas
10 a < 20	600mg/semana por uma semana 300mg na 2ª semana	300mg a cada 2 semanas
5 a < 10	300mg/semana por uma semana 300mg na 2ª semana	300mg a cada 3 semanas

A grande preocupação com o bloqueio da porção terminal do complemento é o prejuízo na defesa contra germes encapsulados, especialmente meningococo. Assim, é recomendada a profilaxia com as vacinas conjugada tetravalente (MenACW135Y) e meningococo B (MenB). Como as vacinas não dão cobertura para alguns sorotipos de meningococo, é também recomendado uso de antibióticos profiláticos para pacientes em uso da droga. Outras vacinas também são orientadas como Pn13, Pn23, Hib e influenza[14][21].

1.4. A descontinuidade do Eculizumabe

O risco de efeito colateral grave (infecção por meningococo), o alto custo da medicação e a necessidade de infusão endovenosa quinzenal na terapia de manutenção geram o interesse em descontinuar a terapia com eculizumabe, porém os estudos ainda têm se mostrado inconclusivos[22][23].

Em um estudo de coorte, Ardissino et al. avaliaram 16 pacientes com SHUa que descontinuaram a terapia com eculizumabe. Houve recidiva em 5 pacientes (31,2%) em um seguimento de 180 dias. Três deles tinham mutação em CFH; um paciente apresentava anticorpo anti-CFH e mutação em proteínas relacionadas a CFH, e um paciente apresentava mutação em gene que codifica fator I[24][25].

A coorte francesa de 38 pacientes com SHUa que descontinuou a terapia com eculizumabe apresentou 12 recidivas (31%) em 22 meses de seguimento, sendo a presença da mutação em gene que codifica CFH um foi associada com apresentação clínica mais precoce[26].

Macia et al. analisaram casos publicados, casos não publicados, estudos clínicos e dados do registro global de SHUa (The Global aHUS Registry). Em relatos de casos não publicados, 4 (66,6%) dos 6 pacientes que descontinuaram o tratamento tiveram apresentação clínica de MAT, enquanto dos 52 pacientes de relatos publicados, 16 (30,7%) apresentaram recidiva. Em estudos clínicos observacionais, dos 61 pacientes que descontinuaram, 12 (19,6%) apresentaram MAT, 5 (41,6%) tiveram mutação em gene que codifica CFH identificada. Na avaliação do registro global, 12 (15,7%) dos 76 que descontinuaram tiveram o tratamento reintroduzido[27].

Em 2020, Fakhouri et al. publicaram o primeiro estudo prospectivo, envolvendo 55 pacientes com SHUa, que avaliou a descontinuidade do eculizumabe, em vários centros na França. Os autores encontraram 23% de recidiva e consideraram a descontinuidade segura, com repercussão positiva na qualidade de vida dos pacientes[28].

1.5. O cenário brasileiro

O Sistema Único de Saúde (SUS), sistema público de saúde brasileiro, prevê pela lei 8080, artigo 7º, promulgada em 19 de setembro de 1990, universalidade de acesso e integralidade na assistência. Esses princípios do sistema geram jurisprudência para uso de qualquer tratamento em território nacional, custeado pelo Estado.

Em março de 2017, o eculizumabe foi registrado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), com a marca de Soliris®, pela empresa Alexion Farmacêutica - Brasil, sob o registro 1981100010015, autorização 1098118.

Em 26 de abril de 2017, mesmo diante das evidências de que o eculizumabe é o tratamento de primeira linha para SHUa[12][15][16][18], um parecer da Advocacia Geral da União recomendou o uso antiagregantes plaquetários e não incorporou o eculizumabe no rol de medicações do SUS para o tratamento de SHUa.

Entre março de 2007 e dezembro de 2018, o governo federal do Brasil totalizou um gasto de R\$ 2,44 bilhões em compras de eculizumabe tanto para o tratamento de SHUa quanto para Hemoglobinúria Paroxística Noturna, através de demanda judicial. Em 2017, a Polícia Federal realizou a Operação Cálice de Hígia que investigou possíveis fraudes nos processos de judicialização para compras de medicações utilizadas no tratamento de doenças raras[29].

Em 10 de outubro de 2017, o jornal Estadão noticiou “Pacientes reclamam de atraso de remédio por ministério”, referindo-se ao eculizumabe na matéria. Em 27 de fevereiro de 2018, em notas taquigráficas na câmara dos deputados em Brasília - DF, o deputado Padre João, do Partido dos Trabalhadores do estado de Minas Gerais, denunciou o desabastecimento de medicações de alto custo para tratamento de doenças raras no Brasil, citando mortes decorrentes da falta do eculizumabe, mesmo depois do ministério da saúde não ter assumido o desabastecimento por vias oficiais de comunicação. Em 17 de junho de 2019, o portal de notícias G1 noticiou que “Pacientes com doenças crônicas ficam sem remédio de alto custo em São Paulo”, referindo-se ao eculizumabe, droga para tratamento “anemia crônica” e para “transplantados”. Todas informações citadas, foram encontradas por livre busca na plataforma Google.

Posteriormente, Caetano et al. relataram uma redução significativa dos gastos federais e número de pessoas tratadas com eculizumabe em 2017, quanto comparados com os anos de 2016 e 2018[29].

Diante das divergências de informações e relatos diversos na imprensa brasileira, em diferentes momentos, acreditamos que um período de instabilidade no abastecimento de eculizumabe no Brasil pôde causar descontinuação de forma não planejada da droga em pacientes com SHUa.

1.6. Cenário para pesquisa clínica

O desabastecimento do eculizumabe no Brasil gerou a oportunidade para a realização de um experimento natural de descontinuidade não planejada da terapia na SHUa. Assim, foi gerada a seguinte questão de pesquisa: Qual a incidência da recidiva de SHUa após a descontinuação não planejada da terapia com eculizumabe ocorrida no Brasil devido a um desabastecimento da droga?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo primário

Analisar a taxa de recidiva de SHUa, no Brasil, devido a descontinuidade não planejada da terapia com eculizumabe associado a um período de desabastecimento da droga.

2.2. Objetivos secundários

Identificar as variáveis genéticas a fim de tentar identificá-las como variáveis preditoras de recidiva.

Comparar a taxa de incidência da descontinuidade não planejada com a descontinuidade da literatura.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Pacientes e desenho do estudo

Este foi um estudo de experimento natural com desenho observacional do tipo coorte retrospectiva. Foram enviadas correspondências eletrônicas a 800 centros de Diálise e Nefrologia em todo Brasil com dados fornecidos pela Sociedade Brasileira de Nefrologia com o convite formal para participação do estudo.

Solicitamos dados clínicos e laboratoriais, através do preenchimento de formulário de coleta de dados padronizado (em Anexos). Foi solicitado ao colaborador o preenchimento de Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (em Anexos), além de termo de participação em pesquisa (em Anexos).

3.2. Critérios de inclusão

- Paciente com diagnóstico clínico de SHUa em uso de terapia com eculizumabe que apresentou descontinuidade não programada por pelo menos 30 (trinta) dias da terapia com eculizumabe, entre 01 de janeiro de 2016 e 31 de dezembro de 2019.
- Consideramos como diagnóstico clínico de SHUa: achados clínicos relacionados à MAT, definidos pela tríade: anemia hemolítica microangiopática (redução de hemoglobina sérica, presença de fragmentos de glóbulos vermelhos/ esquizócitos, aumento da lactado desidrogenase, teste de COOMBS direto negativo); trombocitopenia ou redução de 25% da contagem basal de plaquetas, e redução da taxa de filtração glomerular (Injúria Renal Aguda definida por KDIGO), excluindo STEC-SHU, PTT, o uso de drogas, infecções ou outras potenciais causas secundárias[1][7][30][31].
- Consideramos como descontinuidade a não realização de duas ou mais infusões quinzenais dentro da terapia de manutenção.

- Consideramos como descontinuidade não programada a interrupção da droga sem decisão do paciente e do médico assistente, baseada na investigação genética e condições clínicas do paciente.

3.3. Critérios de exclusão

- Diagnóstico duvidoso de SHUa,
- Presença de falha de tratamento ou doença não remitida no momento da descontinuidade;
- Descontinuidade do eculizumabe por tempo menor que 30 dias;
- Descontinuidade planejada do eculizumabe, diante de decisão de paciente ou médico, à luz de estudo genético;
- Presença de fenótipo de SHUa com apenas mutação de proteínas relacionadas ao sistema de coagulação, não ao sistema complemento (mutação no gene que codifica diacylglycerol kinase-epsilon - DGKE) devido à comprovada ausência de resposta à terapia com eculizumabe[32].

3.4. Dados coletados

3.4.1. Dados clínicos

Os dados clínicos analisados foram idade, sexo, tempo de terapia prévia com eculizumabe, *status* renal (rim nativo, rim transplantado com enxerto funcional, paciente em terapia de substituição renal com diálise), além da avaliação genética.

3.4.2. Análise genética

Painel para SHUa constando, na maioria dos casos, de amplificação e sequenciamento de regiões completa de genes que codificam ADAMTS13, C3, CD46, CFB, CFH, CFHR1, CFHR2, CFHR3, CFHR5, CFI, DGKE, PIGA, THBD, e incluindo 10 pares de bases que margeiam regiões exônicas. No Brasil, as análises foram realizadas de acordo com protocolo descrito por Palma et al[33].

A descrição da técnica para realização do painel para SHUa encontra-se no Apêndice 1.

As variantes foram divididas como perda de função (CFH, CFHR1, CFHR1-CFHR3, CFHR5, CFI), ganho de função (C3) e variantes genéticas não relacionadas ao complemento (DGKE). Todas as variantes identificadas foram avaliadas de acordo com patogenicidade e causalidade[34]. Todas as variantes exceto as benignas ou provavelmente benignas foram reportadas.

3.5. Desfecho primário e desfechos clínicos

3.5.1. Desfecho primário: recidiva

Consideramos recidiva de SHUa após descontinuidade da terapia com eculizumabe como desfecho primário. Recidiva foi como presença de pelo menos duas das características abaixo:

- Trombocitopenia (contagem de plaquetas $< 150 \times 10^3 / \mu\text{l}$);
- Anemia hemolítica mecânica (Hb $< 10 \text{ g/ dl}$, DHL $>$ que limite superior da normalidade; haptoglobina abaixo do limite inferior da normalidade ou indetectável, presença de fragmentos de glóbulos vermelhos/ esquizócitos em esfregaço de sangue periférico);
- Disfunção renal: Injúria Renal Aguda definida por KDIGO[31] ou estar em diálise;
- Achados histológicos compatíveis com MAT (trombos glomerulares e/ou arteriolar, duplo contorno de membrana basal glomerular, destruição de células endoteliais) em biópsia de rim nativo ou enxerto renal.

3.6.1. Desfechos clínicos

Além da presença somente de recidiva, descrevemos os achados clínicos que caracterizaram o desfecho primário. A presença de anemia hemolítica mecânica e/ou trombocitopenia foi distinguida de acometimento renal da MAT, caracterizada por piora de função renal ou achado histológico compatível com MAT. Ainda houve como desfecho clínico a entrada em diálise devido ao acometimento renal e morte associada à recidiva.

Os episódios de recidiva foram tratados no serviço médico de origem de acordo com protocolo de tratamento local – incluindo plasmaférese e infusão de plasma – uma vez que o eculizumabe não estava imediatamente disponível no momento.

3.6. Aprovação no comitê de ética

Este estudo foi inscrito na Plataforma Brasil (**CAAE:** 90838218.4.0000.5411) e aprovado pelo Comitê de ética e pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, Brasil) (**Número do Parecer:** 2.772.340). (em Anexos) O estudo foi desenvolvido dentro das normas da Declaração de Helsinki.

3.7. Análise estatística

As características de base dos pacientes foram apresentadas como média e desvio padrão para variáveis paramétricas e mediana e intervalo interquartil para variáveis não paramétricas. Utilizamos uma Kaplan-Meier curva para estimar o risco de recidiva ao longo do tempo. Um modelo de regressão Cox foi utilizado para avaliar preditores que poderiam estar associados com recidiva (desfecho primário). Essas análises foram realizadas no programa R 3.6.3 com os pacotes *survival* e *survminer*. No programa SPSS versão 26.0, realizamos análise univariada entre pacientes que apresentaram e não apresentaram recidiva, com teste T de student para variáveis contínuas e teste exato de Fisher para variáveis categóricas.

4. RESULTADOS

4.1. Características de base e genéticas dos pacientes e episódios de exposição de risco.

Foram obtidos dados de 11 diferentes centros de todo o Brasil. Rastreamos dados de 25 com diagnóstico de SHUa e 26 episódios de exposição de risco após descontinuação da terapia com eculizumabe. Um paciente, que apresentou um episódio, foi excluído por apresentar apenas mutação isolada não relacionada ao complemento (variante *DGKE*).

O eculizumabe não estava disponível para tratamento dos episódios de recidiva. A única exceção foi a única criança que após primeiro episódio de descontinuidade e recidiva, retornou a droga, com remissão clínica, e descontinuou novamente após alguns meses.

Analisamos 24 pacientes com 25 episódios de exposição de risco. A figura 01 demonstra o fluxograma do estudo com casos rastreados, excluídos e analisados.

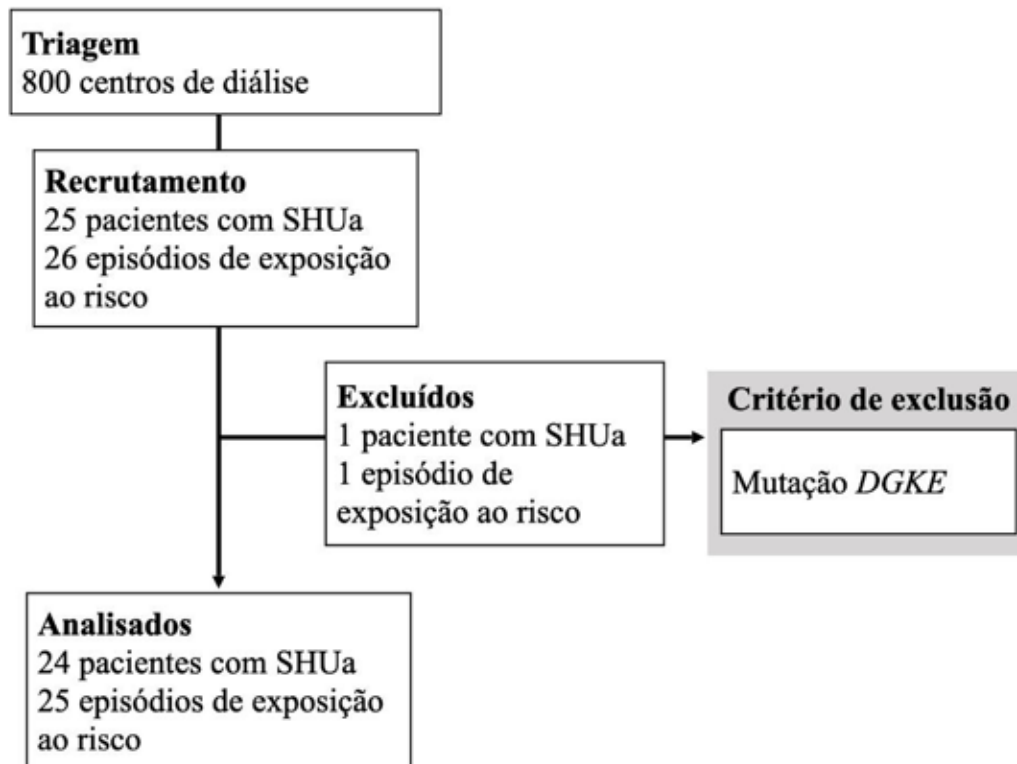


Figura 1. Fluxograma do estudo.

A mediana de idade foi 33 (6 – 53) anos, 18 (72%) eram do sexo feminino, 9 (36%) eram transplantados com enxerto renal funcionante e 5 (20%) estavam em tratamento de substituição renal com diálise. Em 22 episódios, o eculizumabe estava sendo utilizado há mais de 365 dias antes da descontinuação. A maioria dos episódios de descontinuação, 21 (84%), ocorreram no ano de 2017.

A investigação genética foi realizada em 20 (80%) dos episódios de risco analisados. Alguma variante genética foi encontrada em 16 (64%) dos episódios. O gene que codifica CFH foi o que mais apresentou algum tipo de variante encontrada (n = 8, 32%). A tabela 03 mostra todas as características de base dos pacientes nos episódios de exposição de risco estudados.

Tabela 3. Características dos pacientes de acordo com o episódio de exposição de risco pela descontinuidade do eculizumabe.

Parâmetros	n=25
Mediana de idade, anos (intervalo)	33(6 – 53)
Sexo, n (%)	
Feminino	18 (72)
Masculino	7 (28)
Transplante renal., n (%)	9 (36)
Diálise, n (%)	5 (20)
Duração da terapia (dias), n (%)	
<365	3 (12)
150	1 (4)
182	1 (4)
350	1 (4)
>365	22 (88)
Genes do complemento com mutação encontrada, n (%)	
Presença de qualquer variante identificada	16 (64)
CFH	8 (32)
CFI	2 (8)
C3	5 (20)
CFHR1-CFHR3	8 (32)
CFB	1 (4)
CFHR1	2 (8)
CFHR5	4 (16)
Nenhuma variante identificada	4 (16)
Não investigado	5 (20)

N: amostra; nenhuma variante identificada: nenhuma variante identificada após investigação genética de painel de SHUa. CFH: fator H do complemento; CFHR1, CFHR3, CFHR5: proteínas relacionadas a CFH (CFHR1, CFHR3, CFHR5); CFI: fator I do complemento; CFB: fator B do complemento, C3: proteína C3 do complemento.

A tabela 04 descreve cada episódio de exposição de risco, incluindo características de base dos pacientes, status renal (rim nativo, transplante renal com enxerto funcionando ou paciente em diálise), bem como gene com mutações identificadas e variantes genéticas.

Tabela 4. Características dos pacientes que tiveram a terapia com eculizumabe descontinuada.

Episódios	Sexo	Idade (anos)	Status renal	Duração da terapia (dias)	Duração da descontinuação (dias)	Recidiva	Genes	Descrição genética **
1	F	38	Tx	>365	71	Sim	não investigada	
2	M	34	Tx	>365	365	Não	Nenhuma	
3	M	25	Tx	>365	233	Não	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i>	Variante em <i>CFH</i> em heterozigose (c.3148A>T; p.Asn1050Tyr) Deleção em homozigose em <i>CFH</i> Deleção em homozigose abarcada em <i>CFHR1-CFHR3</i> Provável VP tipo deleção em homozigose abarcada no exon 23 em <i>CFH</i>
4	F	37	Tx	>365	79	Sim	Nenhuma	
5	M	33	Tx	350	30	Não	<i>C3</i> <i>DGKE</i>	Variante <i>C3</i> em heterozigose (c.463A>C; p.Lys155Gln) VSI em heterozigose em <i>DGKE</i> (c.318C>G; p.Phe106Leu)
6	F	19	Tx	>365	92	Não	Nenhuma	
7	M	34	Tx	150	40	Sim	<i>CFI</i> <i>CFB</i>	Provável VP em heterozigose em <i>CFI</i> (c.1246A>C + c.1071T>G + p.Ile416Leu + p.Ile357Met) VSI em heterozigose em <i>CFB</i> (c.1505T>C; p.Ile502Thr)
8	F	25	Nativo	>365	409	Não	<i>CFH</i> <i>CFHR5</i>	Variante em <i>CFH</i> em heterozigose (c.1111C>A; p.His371Asn) Variante em <i>CFHR5</i> em heterozigose (c.232T>C; p.Ser78Pro + c.835T>A; p.Tyr279Asn + c.986_988del; p.Lys329del)

9	M	46	Nativo	>365	228	Não	não investigada	
10	F	43	Diálise	>365	128	Sim	<i>CFH</i> <i>C3</i>	VP em heterozigose em <i>CFH</i> (c.3473C>G; p.Ser1158) VSI em heterozigose em <i>C3</i> (c.3593A>G; p.Gln1198Arg)
11	F	27	Tx	182	114	Sim	<i>C3</i> <i>CFI</i> <i>CFHR1-</i> <i>CFHR3</i>	Variante em heterozigose em <i>C3</i> (c.193A>C + p.Lys65Gln) Variante em heterozigose em <i>CFI</i> (c.530A>T + p.Asn177Ile) Deleção em heterozigose abarcada <i>CFHR1-CFHR3</i>
12	F	21	Nativo	>365	149	Sim	<i>CFHR1-</i> <i>CFHR3</i>	VSI tipo deleção em heterozigose em <i>CFHR1-CFHR3</i>
13	F	33	Nativo	>365	204	Não	<i>C3</i> <i>CFHR1</i> <i>CFHR1-</i> <i>CFHR3</i>	Variante em heterozigose em <i>C3</i> (c.3100T>C; p.Trp1034Arg) Variante em homozigose em <i>CFHR1</i> (c.614C>T; p.Thr205Met) VSI tipo deleção em heterozigose em <i>CFHR1-CFHR3</i>
14	F	30	Nativo	>365	32	Sim	Nenhuma	
15	F	46	Diálise	>365	189	Não	<i>CFH</i>	Provável VP em homozigose em <i>CFH</i> (c.1756C>T; p.Gln586)
16	F	53	Diálise	>365	189	Não	<i>CFH</i>	Provável VP em homozigose em <i>CFH</i> (c.1756C>T; p.Gln586)
17	F	34	Nativo	>365	109	Sim	<i>CFH</i>	Variante em heterozigose em <i>CFH</i> (c.3572C>T; p.Ser1191Leu)
18	F	32	Nativo	>365	124	Não	não investigada	

19	F	34	Diálise	>365	249	Não	não investigada	
20 *	M	6	Nativo	>365	49	Sim	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i> <i>CFHR5</i>	VP em heterozigose em <i>CFH</i> (c.3548G>T; p.Trp1183Leu) Deleção em heterozigose abarcada em <i>CFHR1-CFHR3</i> VSI em heterozigose em <i>CFHR5</i> (c.1664G>C; p.Arg555Pro)
21 *	M	6	Nativo	>365	85	Sim	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i> <i>CFHR5</i>	VP em heterozigose em <i>CFH</i> (c.3548G>T; p.Trp1183Leu) Deleção em heterozigose abarcada <i>CFHR1-CFHR3</i> VSI em heterozigose em <i>CFHR5</i> (c.1664G>C; p.Arg555Pro)
22	F	36	Tx	>365	85	Não	<i>CFHR1</i> <i>CFHR5</i>	VSI em heterozigose envolvendo duplicação <i>CFHR1</i> em exon 6 VSI em heterozigose em <i>CFHR5</i> (c.254-2_266dup; p.Ser88_Phe89insLeuGlyMetCysSer)
23	F	29	Nativo	>365	397	Sim	<i>C3</i> <i>CFHR1-CFHR3</i>	VSI em heterozigose em <i>C3</i> (c.188C>G; p.Pro63Arg) VSI tipo deleção em homozigose em <i>CFHR1-CFHR3</i>
24	F	30	Nativo	>365	720	Não	<i>CFHR1-CFHR3</i>	Deleção em heterozigose em <i>CFHR1-CFHR3</i>
25		31	Diálise	>365	720	Não	Não investigada	

Abreviações: Tx: transplante (enxerto renal funcionante); nenhuma: nenhuma variante genética identificada em painel para SHUa; VP: variante patogênica; VSI: variante de significado incerto; CFH: fator H do complemento; CFHR1, CFHR3, CFHR5: proteínas relacionadas a CFH (CFHR1, CFHR3, CFHR5); CFI: fator I do complemento; CFB: fator B do complemento, C3: proteína C3 do complemento. * Diferentes episódios de exposição no mesmo paciente.

** Variantes foram descritas de acordo com American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG).

4.2. Achados relacionados às recidivas.

Dos 25 episódios de exposição analisados, 11 (44%) apresentaram recidiva. O risco cumulativo de recidiva de SHUa após descontinuação da terapia com eculizumabe foi de 34% em 114 dias, 44,5% em 150 dias e alcançou seu máximo de 58% com 397 dias de exposição, como mostra a figura 02.

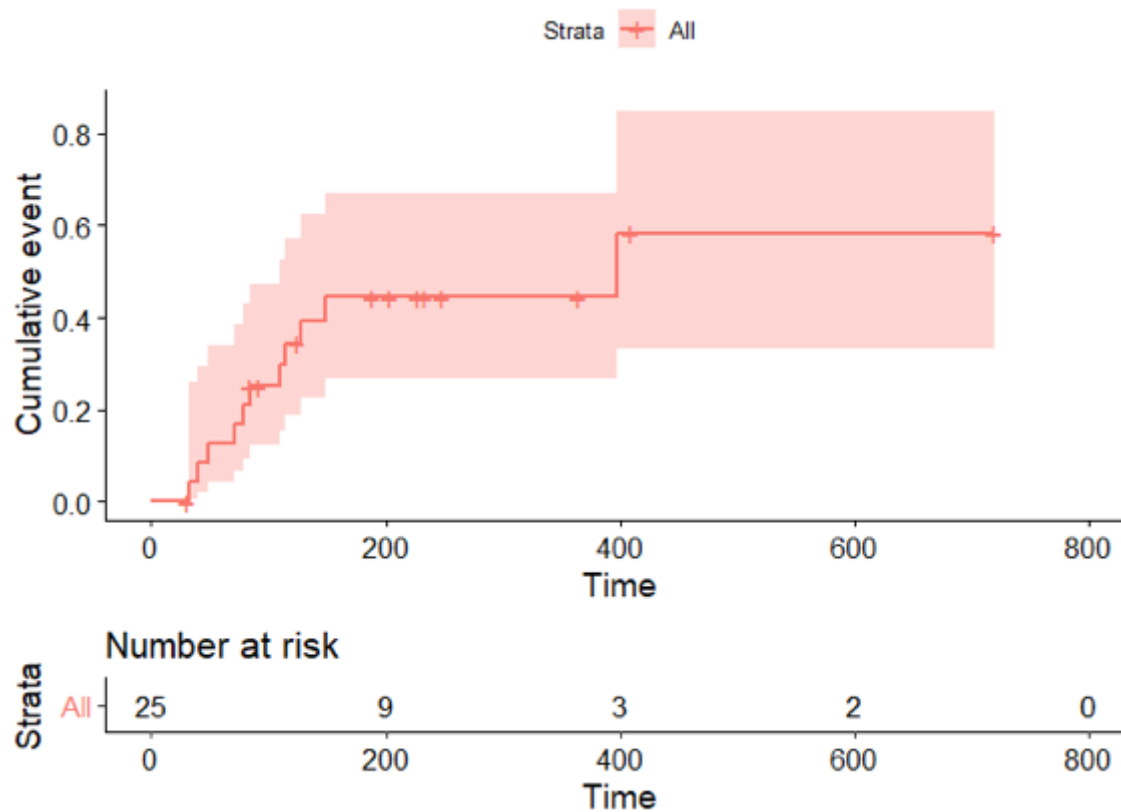


Figura 2. Incidência cumulativa *One minus* de evento (recidiva de SHUa) ao longo do tempo de exposição.

Os desfechos clínicos foram presença de achados laboratoriais compatíveis com manifestações sistêmicas de MAT (anemia microangiopática e/ou trombocitopenia) e piora da função renal como possível manifestação clínica de MAT. Um paciente transplantado apresentou perda de função do enxerto e reiniciou hemodiálise, enquanto outro apresentou o desfecho óbito. A figura 03 demonstra os desfechos clínicos apresentados pelos pacientes ao longo do tempo.

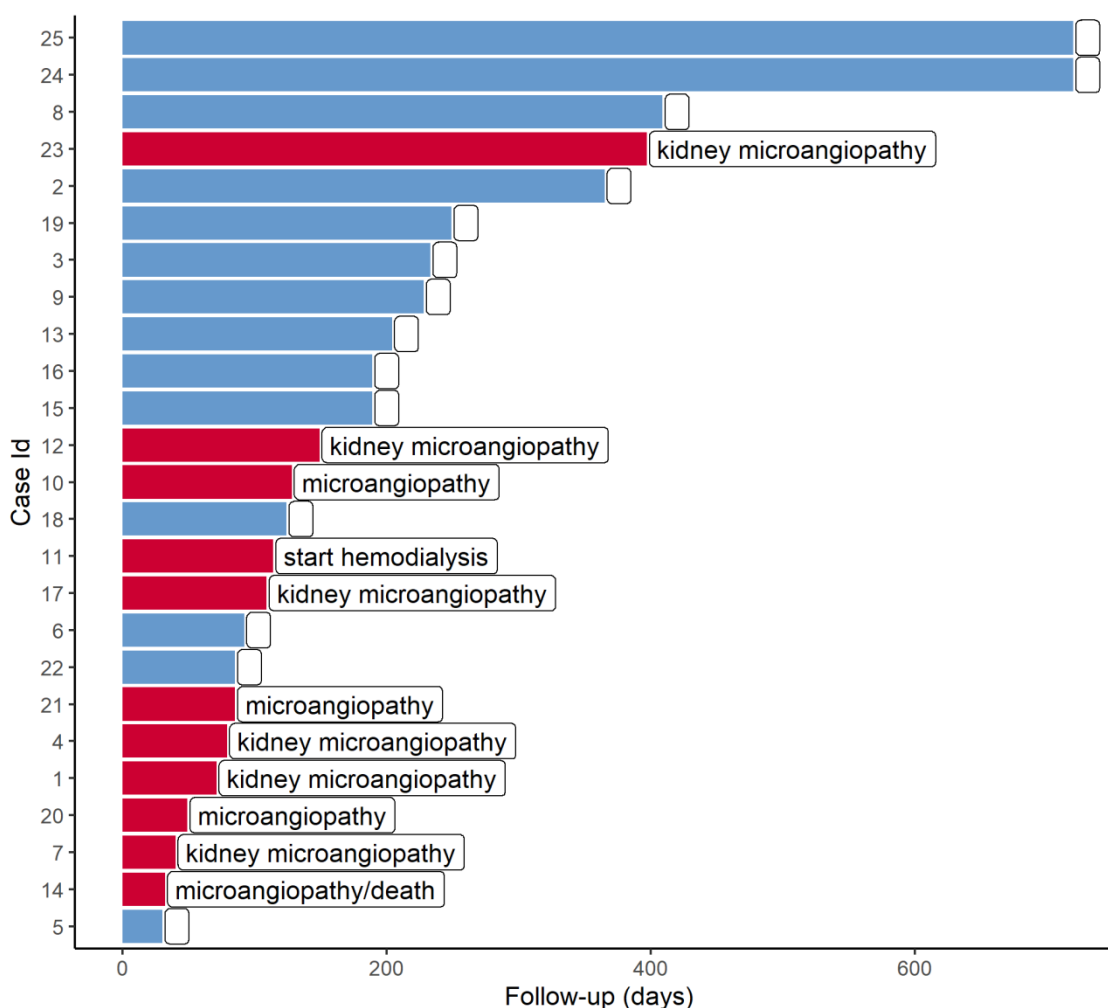


Figura 3. Desfechos clínicos ao longo do tempo para cada episódio de exposição de risco.

Microangiopathy (Microangiopatia) = achados laboratoriais compatíveis com anemia microangiopática e trombocitopenia; *Kidney microangiopathy* (Microangiopatia renal) = injúria renal aguda e achados laboratoriais compatíveis com anemia microangiopática e trombocitopenia; *Start hemodialysis* (início de diálise); *Death* (óbito).

Quando comparamos episódios que apresentaram recidiva com episódios de exposição de risco que não apresentaram recidivas, não encontramos diferença estatística para os dois grupos para as variáveis: idade, sexo, *status* renal (rim nativo, transplante ou diálise) e característica genética (presença de qualquer variante genética identificada, nenhuma variante identificada, ausência de investigação genética e presença de variante em CFH) como mostra a tabela 05.

Tabela 5. Comparação de características de todos os episódios, episódios que não apresentaram e episódios que apresentaram recidivas.

	Todos (n = 25)		Sem recidiva (n = 14)		Com recidiva (n = 11)		P-valor
Idade, anos							
média (DP)	31,28	(10,8)	34,07	(9,1)	27,73	(12,2)	0,15 ^a
Sexo, n (%)							
Feminino	18	72%	10	71,4%	8	72,7%	0,64 ^b
Masculino	7	28%	4	28,6%	3	27,3%	
Status renal							
Rim nativo, n (%)	11	44%	5	35,7%	6	54,5%	0,29 ^b
Transplante	9	36%	5	35,7%	4	36,4%	0,64 ^b
Diálise	5	20%	4	28,6%	1	9,1%	0,24 ^b
Características genéticas							
Qualquer variante identificada	15	60%	8	57,1%	7	63,6%	0,53 ^b
Nenhuma variante identificada	4	16%	2	14,3%	2	18,2%	0,60 ^b
Sem investigação genética	5	20%	4	28,6%	1	9,1%	0,24 ^b
CFH	8	32%	4	28,6%	4	36,4%	0,50 ^b

DP, desvio-padrão; n, amostra; CFH, gene que codifica o fator H

^aTeste exato de Fisher

^bTeste T de student

Em análise multivariada com regressão de Cox, avaliamos possíveis variáveis preditoras independentes para o desfecho recidiva de SHUa. Assim, avaliamos idade, sexo masculino, estar em diálise, estar transplantado com enxerto renal funcionante, não ter apresentado variante genética identificada em estudo genético, não ter realizado investigação genética e ainda variante genética identificada em gene que codifica CFH. A tabela 06 e a figura 04 nos mostram que nenhuma variável estudada foi associada com desfecho recidiva, assim como o risco relativo para cada variável e intervalo de confiança de 95%.

Tabela 6. Preditores independentes de recidiva após descontinuidade do eculizumabe em análise multivariada com regressão de Cox.

Variáveis	Análise com regressão de Cox	
	HR (IC 95%)	p-valor
Idade	0,97 (0,89 – 1,04)	0,38
Sexo masculino	0,84 (0,15 – 4,7)	0,84
Diálise	0,50 (0,03 – 7,28)	0,61
Transplante renal	1,37 (0,25 – 7,65)	0,72
Variante: não identificada	1,49 (0,18 – 12,13)	0,71
Variante: não investigada	0,68 (0,05 – 8,52)	0,77
Variante: CFH	1,23 (0,23 – 6,64)	0,81

Legenda: Idade: idade por ano; sexo, masculino: sim ou não; diálise: paciente em diálise sim ou não; transplante renal: enxerto renal funcionante sim ou não; variante: não identificada, não investigada; CFH sim ou não. HR, hazard ratio; IC 95%: intervalo de confiança de 95%.

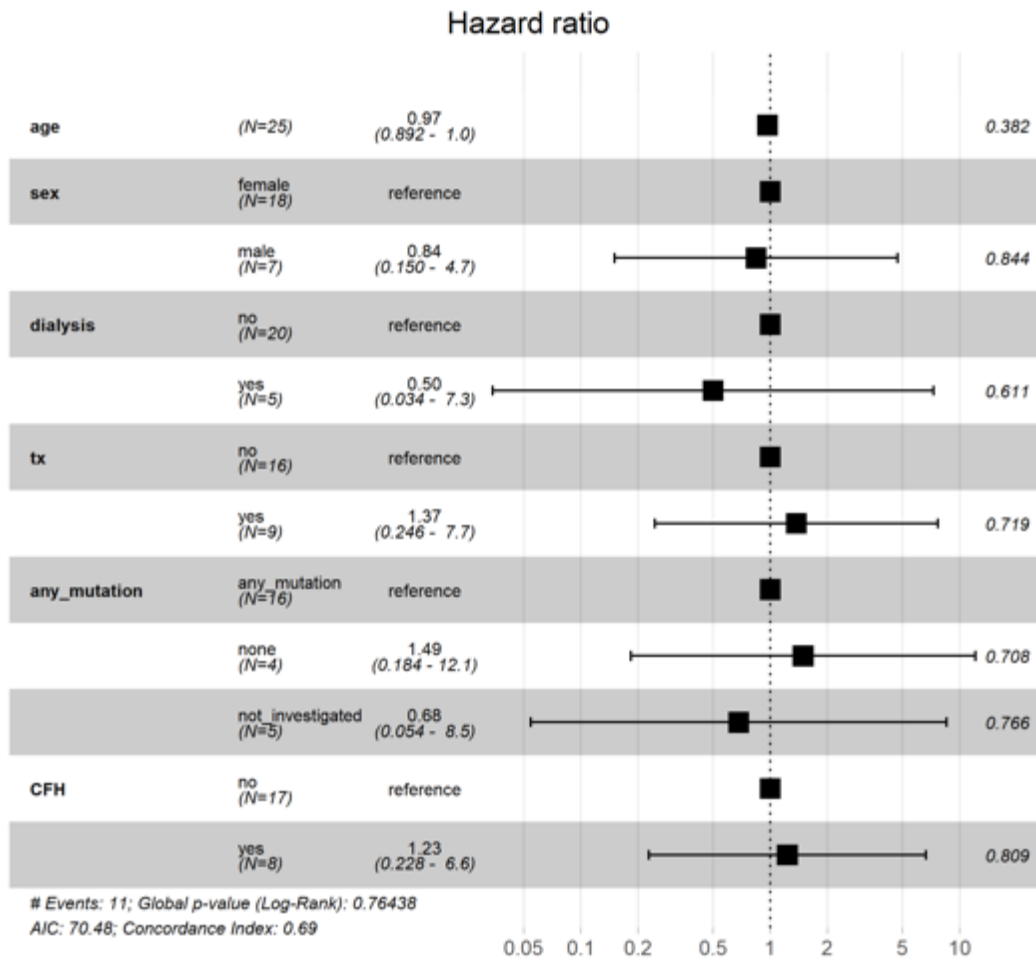


Figura 4. Preditores independentes de recidiva após descontinuidade do eculizumabe em análise multivariada com regressão de Cox.

Age: idade em anos; sex (female or male): sexo feminino ou masculino; dialysis: diálise não ou sim; tx: transplante renal com enxerto funcionante não ou sim; any_mutation: alguma mutação identificada, none: mutação não identificada, not investigated: mutação não investigada; CFH: variante em CFH não ou sim.

Como a literatura relata maior patogenicidade em mutações em gene que codifica CFH, assim como estudos de descontinuação do eculizumabe que ocorreram de forma não planejada demonstraram maior recidiva nesses pacientes, realizamos análise de incidência para pacientes com mutação em CFH. Em 8 (32%) episódios, encontramos associação com variantes em gene que codificam CFH. Em análise de incidência cumulativa com curva de Kaplan-Meier (figura 05), não houve diferença na incidência de recidiva no grupo com ou sem variante em CFH.

Também realizamos uma análise de incidência cumulativa com curva de Kaplan-Meier para diferenciar a incidência de recidiva entre pacientes transplantados de rim e não transplantados (figura 06). Não houve diferença na incidência de recidiva entre os dois grupos.

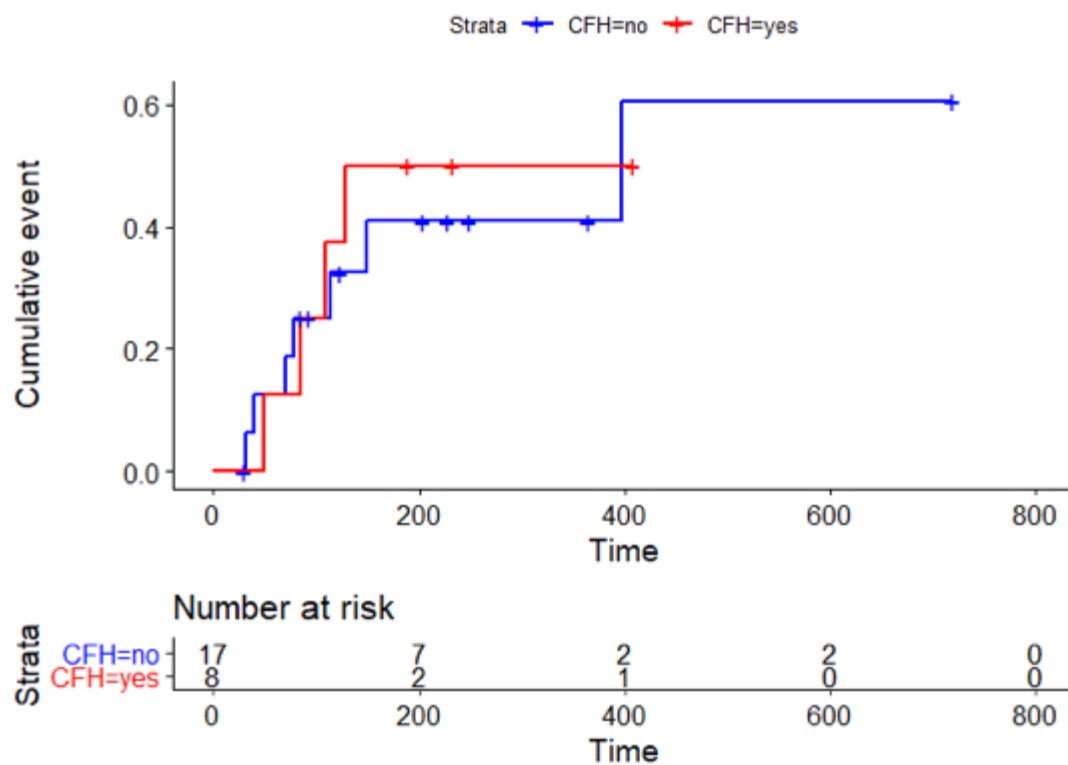


Figura 5. Incidência cumulativa comparativa de recidiva em pacientes com ou sem CFH.
 CFH=no: pacientes que não apresentam variante em CFH. CFH=yes: pacientes que apresentam variante em CFH.

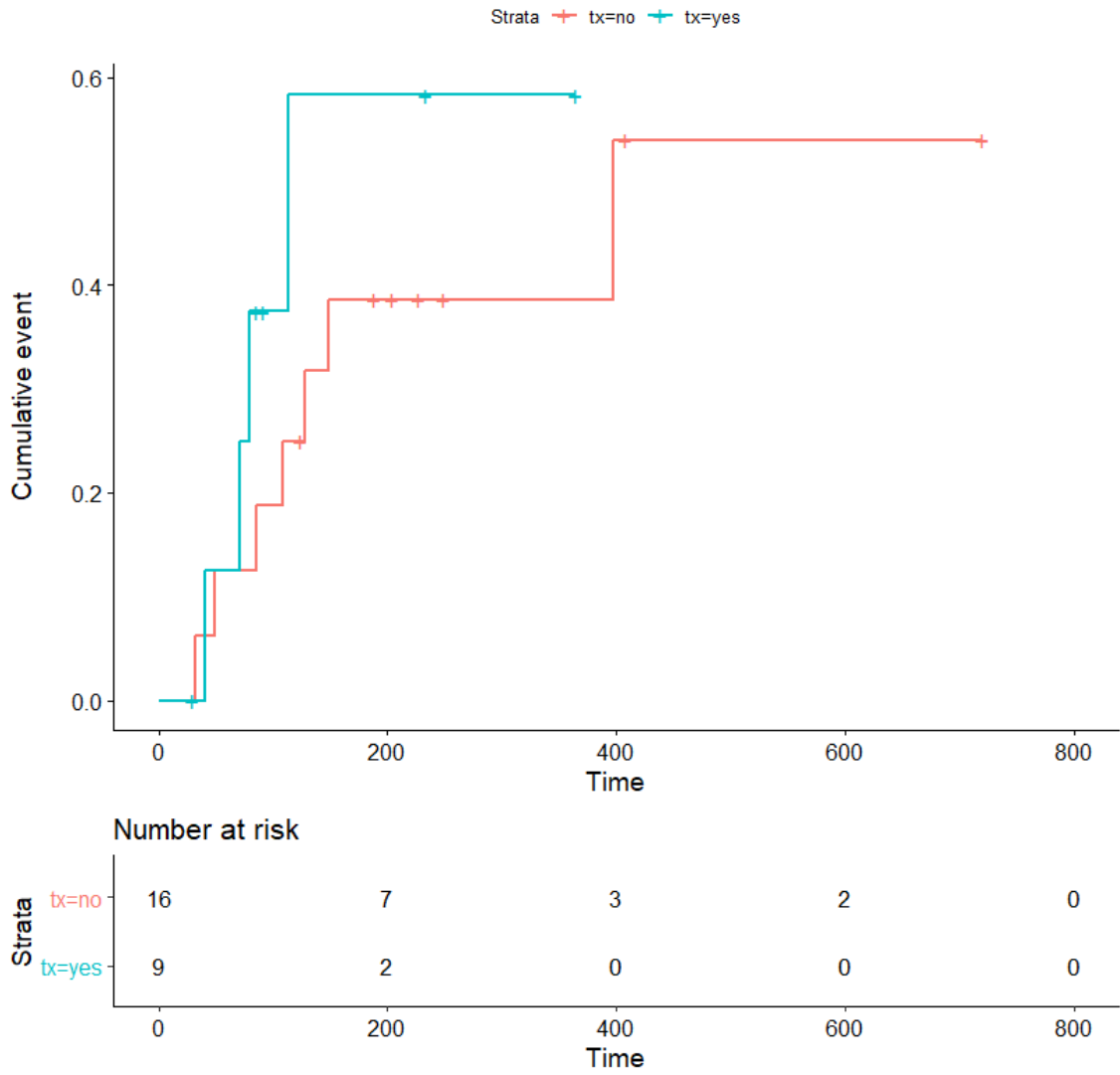


Figura 6. Incidência cumulativa comparativa de recidiva em pacientes transplantados e não transplantados.

TX=no: pacientes não transplantados. TX=yes: pacientes transplantados.

5. DISCUSSÃO

5.1. Discussão dos achados

Os principais resultados deste estudo foram publicados no dia 02 de janeiro de 2021 na revista *Journal of Nephrology*[35]. O artigo se encontra na íntegra na segunda parte desta tese.

A falta de ensaios clínicos randomizados tornam as respostas sobre a descontinuidade da terapia com eculizumabe na SHUa um assunto ainda controverso. Neste estudo, avaliamos 25 episódios de descontinuação não planejada da terapia com eculizumabe em 24 pacientes com SHUa (um paciente apresentou dois episódios de exposição de risco por descontinuar eculizumabe com intervalo aproximado de 6 meses entre eles). Acreditamos ser alta uma incidência cumulativa de 58% em 6 meses de exposição de risco, em especial quando comparamos com outros estudos observacionais que analisaram a descontinuação da terapia de forma planejada e evidenciaram uma taxa de recidiva máxima ao redor de 30%[24][25][26][28][33].

No presente estudo, a maior parte dos casos de descontinuação ocorreram no ano de 2017, e o que reforça a possibilidade de estarem relacionados com a menor disponibilidade da droga no Brasil. Devido a impossibilidade de tratar os episódios de recidiva com eculizumabe de forma imediata, tivemos dois desfechos clínicos graves (uma perda de função do enxerto renal e um óbito no contexto de MAT).

O aparente pior resultado da descontinuidade realizada de forma não planejada pode estar associado a três principais fatores: 1 – características genéticas da população estudada; 2 – inclusão de pacientes transplantados, e 3 – não monitorização da ativação do complemento antes de manifestações clínico-laboratoriais de MAT.

Em nossa amostra, identificamos variantes genéticas em 64% dos episódios, estando CFH presente em 32%. Em estudos de descontinuação da terapia com eculizumabe, a presença de variante de CFH esteve envolvida com precocidade de recidiva, presente em 80% e 72% dos estudos italiano e francês, respectivamente. Além disso, não encontramos variante CD46, diferente dos

estudos europeus. Entretanto, encontramos uma frequência maior de variante de ganho de função de C3, potencialmente grave[24][25][26]. O único estudo prospectivo de descontinuidade apresentou uma taxa de recidiva de 23%, porém apenas 11% dos pacientes incluídos apresentavam mutação em CFH[28].

Buscamos associação da presença de variante CFH como variável preditora independente de recidiva entre os episódios de exposição de risco analisados. Não encontramos tal associação com desfecho em análise univariada (tabela 5), análise de incidência cumulativa com curva de Kaplan-Meier (figura 2) e análise multivariada com regressão de Cox (tabela 6 e figura 4). A falta de associação pode relacionada com o tamanho pequeno da amostra.

Tivemos 44% de recidiva em 9 episódios de exposição de risco em pacientes transplantados com enxerto renal funcionante. A recidiva de MAT em transplante renal está relacionada às anormalidades genéticas e pode, ainda, haver uma discordância temporal entre as manifestações clínicas e achados histopatológicos[1][36]. Assim, o diagnóstico de MAT no contexto de transplante renal é muito desafiador. Talvez devêssemos avaliar a possibilidade de protocolo de biópsia após a descontinuidade do eculizumabe para monitorização e achado precoce de recidiva em avaliação histológica.

O tempo de seguimento após a descontinuação da droga pode ser fator limitante para apresentação de desfecho. Depósitos de eculizumabe em arteríolas renais podem permanecer detectáveis em até 5 meses após a retirada da droga[37]. Um efeito inibitório no sistema complemento pode justificar o aparecimento mais tardio de recidivas após a descontinuação da droga.

Sobre o desafio diagnóstico de recidiva de SHUa, observamos que os estudos se utilizam achados laboratoriais e clínicos relacionados a MAT[24][25][26][27]. A decisão de reiniciar a droga poderia ocorrer antes de desfechos clínicos não favoráveis, como manifestações clínico laboratoriais de MAT ou MAT evidente em biópsia. Assim, após a descontinuidade da droga, a monitorização dos níveis séricos de eculizumabe, detecção precoce de alterações histológicas e atividade do complemento deve ser realizada. Fakhouri et al. demonstraram a incidência maior de recidiva após a descontinuidade esteve associada à elevação de níveis séricos de C5b9 solúvel[28]. Possivelmente, quando pudermos lançar mão de métodos diagnósticos mais precisos, poderemos evoluir para um uso mais restritivo da droga e com uma

prescrição individualizada[38]. Acreditamos que as evidências ainda não são suficientes para determinar critérios eleger pacientes que possam ser submetidos à descontinuidade do eculizumabe. Porém, uma vez que ela ocorra, por decisão de médico e paciente ou pela circunstância, deveríamos lançar mão de ferramentas como avaliação da atividade do complemento (C5b9 solúvel, por exemplo) antes mesmo de manifestações laboratoriais de MAT e biópsia protocolar para rastreamento de MAT, mesmo sem evidência laboratorial.

5.2. Limitações do estudo

Este é um estudo observacional retrospectivo de experimento natural e apresenta limitações. Diferentes colaboradores coletaram dados de prontuários médico em diversos serviços. Todos os exames foram realizados em diferentes centros.

Recebemos um número pequeno de casos, principalmente por se tratar de uma doença ultrarrara. Possivelmente o tempo de seguimento pode não ter sido suficiente para avaliar resultados, em especialmente em pacientes com variantes genéticas de menor patogenicidade. Nem todos os centros contatados enviaram dados, assim outros pacientes em risco de exposição podem não ter sido analisados.

Apesar das limitações, tivemos uma oportunidade única de realizar um estudo de experimento natural para avaliar recidivas de SHUa após a descontinuação do eculizumabe feita de forma não planejada após período de desabastecimento no Brasil.

6. CONCLUSÃO

A incidência cumulativa de recidiva de SHUa alcançou 58% após 397 dias de descontinuação do eculizumabe. Consideremos que essa alta incidência demonstrou que a descontinuação da droga neste contexto não foi realizada de forma segura. Nesta coorte de pacientes, a presença da variante do complemento em CFH não esteve associada a maior da taxa de recidiva.

A incidência de recidiva de SHUa encontrada foi maior do que a descrita na literatura em relação aos estudos de descontinuidade planejada do eculizumabe.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goodship THJ, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, Nester CM, Noris M, Pickering MC, Rodríguez de Córdoba S, Roumenina LT, Sethi S, Smith RJH, Conference Participants. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2017;91(3):539–51.
2. Schaefer F, Ardissino G, Ariceta G, Fakhouri F, Scully M, Isbel N, Lommelé Å, Kupelian V, Gasteyger C, Greenbaum LA, Johnson S, Ogawa M, Licht C, Vande Walle J, Frémeaux-Bacchi V, Global aHUS Registry. Clinical and genetic predictors of atypical hemolytic uremic syndrome phenotype and outcome. *Kidney Int.* 2018;94(2):408–18.
3. Brocklebank V, Wood KM, Kavanagh D. Thrombotic Microangiopathy and the Kidney. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018 Feb 7;13(2):300–17.
4. Ernandes Neto M, Soler L de M, Gallindo Vasconcelos HV, dos Santos DC, Viero RM, Modelli de Andrade LG. Histopathological features of thrombotic microangiopathies in renal biopsies. *J Nephropathol.* 2019 Jul 12;8(3):27–27.
5. Barbour T, Johnson S, Cohn S, Hughes P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol Dial Transplant.* 2012 Jul 1;27(7):2673–85.
6. Lusco MA, Fogo AB, Najafian B, Alpers CE. *AJKD Atlas of Renal Pathology: Thrombotic Microangiopathy.* *Am J Kidney Dis.* 2016 Dec;68(6):e33–4.
7. Nester CM, Barbour T, de Córdoba SR, Dragon-Durey MA, Frémeaux-Bacchi V, Goodship THJ, Kavanagh D, Noris M, Pickering M, Sanchez-Corral P, Skerka C, Zipfel P, Smith RJH. Atypical aHUS: State of the art. *Mol Immunol.* 2015 Sep;67(1):31–42.
8. Feitz WJC, van de Kar NCAJ, Orth-Höller D, van den Heuvel LPJW, Licht C. The genetics of atypical hemolytic uremic syndrome. *Med Genet.* 2018 Dec;30(4):400–9.
9. Noris M, Remuzzi G. Glomerular Diseases Dependent on Complement Activation, Including Atypical Hemolytic Uremic Syndrome, Membranoproliferative Glomerulonephritis, and C3 Glomerulopathy: Core Curriculum 2015. *Am J Kidney Dis.* 2015 Aug;66(2):359–75.
10. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, Daina E, Fenili C, Castelletti F, Sorosina A, Piras R, Donadelli R, Maranta R, van der Meer I, Conway EM, Zipfel PF, Goodship TH, Remuzzi G. Relative Role of Genetic Complement Abnormalities in Sporadic and Familial aHUS and Their Impact on Clinical Phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Oct;5(10):1844–59.
11. Lemaire M, Noone D, Lapeyraque A-L, Licht C, Frémeaux-Bacchi V. Inherited Kidney Complement Diseases. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2021 Jun;16(6):942–56.

12. Nester CM. Managing atypical hemolytic uremic syndrome: chapter 2. *Kidney Int.* 2015 May;87(5):882–4.
13. Langman C, Palma L. Critical appraisal of eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome. *J Blood Med.* 2016 Apr;39.
14. Verhave JC, Wetzels JFM, van de Kar NCAJ. Novel aspects of atypical haemolytic uremic syndrome and the role of eculizumab. *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Sep 1;29(suppl 4):iv131–41.
15. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, Bingham C, Cohen DJ, Delmas Y, Douglas K, Eitner F, Feldkamp T, Fouque D, Furman RR, Gaber O, Herthelius M, Hourmant M, Karpman D, Lebranchu Y, Mariat C, Menne J, Moulin B, Nürnberger J, Ogawa M, Remuzzi G, Richard T, Sberro-Soussan R, Severino B, Sheerin NS, Trivelli A, Zimmerhackl LB, Goodship T, Loirat C. Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Atypical Hemolytic–Uremic Syndrome. *N Engl J Med.* 2013 Jun 6;368(23):2169–81.
16. Licht C, Greenbaum LA, Muus P, Babu S, Bedrosian CL, Cohen DJ, Delmas Y, Douglas K, Furman RR, Gaber OA, Goodship T, Herthelius M, Hourmant M, Legendre CM, Remuzzi G, Sheerin N, Trivelli A, Loirat C. Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int.* 2015 May;87(5):1061–73.
17. Greenbaum LA, Fila M, Ardissino G, Al-Akash SI, Evans J, Henning P, Lieberman KV, Maringhini S, Pape L, Rees L, van de Kar NCAJ, Vande Walle J, Ogawa M, Bedrosian CL, Licht C. Eculizumab is a safe and effective treatment in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* 2016 Mar;89(3):701–11.
18. Fakhouri F, Hourmant M, Campistol JM, Cataland SR, Espinosa M, Gaber AO, Menne J, Minetti EE, Provôt F, Rondeau E, Ruggenenti P, Weekers LE, Ogawa M, Bedrosian CL, Legendre CM. Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Adult Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Single-Arm, Open-Label Trial. *Am J Kidney Dis.* 2016 Jul;68(1):84–93.
19. de Andrade LGM, Contti MM, Nga HS, Bravin AM, Takase HM, Viero RM, da Silva TN, Chagas KDN, Palma LMP. Long-term outcomes of the Atypical Hemolytic Uremic Syndrome after kidney transplantation treated with eculizumab as first choice. Stepkowski S, editor. *PLOS ONE.* 2017 Nov 14;12(11):e0188155.
20. Gonzalez Suarez ML, Thongprayoon C, Mao MA, Leeaphorn N, Bathini T, Cheungpasitporn W. Outcomes of Kidney Transplant Patients with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Treated with Eculizumab: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2019 Jun 27;8(7):919.
21. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, Grinyó JM, Macía M, Mendizábal S, Praga M, Román E, Torra R, Valdés F, Vilalta R, Rodríguez de Córdoba S. Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso. *Nefrología.* 2015 Sep;35(5):421–47.
22. Rodriguez E, Barrios C, Soler MJ. Should eculizumab be discontinued in patients with atypical hemolytic uremic syndrome? *Clin Kidney J.* 2017 Jun;10(3):320–2.

23. Olson SR, Lu E, Sulpizio E, Shatzel JJ, Rueda JF, DeLoughery TG. When to Stop Eculizumab in Complement-Mediated Thrombotic Microangiopathies. *Am J Nephrol*. 2018;48(2):96–107.
24. Ardissino G, Testa S, Possenti I, Tel F, Paglialonga F, Salardi S, Tedeschi S, Belingheri M, Cugno M. Discontinuation of Eculizumab Maintenance Treatment for Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Report of 10 Cases. *Am J Kidney Dis*. 2014 Oct;64(4):633–7.
25. Ardissino G, Possenti I, Tel F, Testa S, Salardi S, Ladisa V. Discontinuation of Eculizumab Treatment in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: An Update. *Am J Kidney Dis*. 2015 Jul;66(1):172–3.
26. Fakhouri F, Fila M, Provôt F, Delmas Y, Barbet C, Châtelet V, Rafat C, Cailliez M, Hogan J, Servais A, Karras A, Makdassi R, Louillet F, Coindre J-P, Rondeau E, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. Pathogenic Variants in Complement Genes and Risk of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Relapse after Eculizumab Discontinuation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017 Jan 6;12(1):50–9.
27. Macia M, de Alvaro Moreno F, Dutt T, Fehrman I, Hadaya K, Gasteyger C, Heyne N. Current evidence on the discontinuation of eculizumab in patients with atypical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Kidney J*. 2017 Jan 12;sfw115.
28. Fakhouri F, Fila M, Hummel A, Ribes D, Sellier-Leclerc A-L, Ville S, Pouteil-Noble C, Coindre J-P, Le Quintrec M, Rondeau E, Boyer O, Provôt F, Djeddi D, Hanf W, Delmas Y, Louillet F, Lahoche A, Favre G, Chatelet V, Allain-Launay E, Presne C, zaloszcyc A, Caillard S, Bally S, Raimbourg Q, tricot leila, Mousson C, Le Thuaut A, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Eculizumab discontinuation in children and adults with atypical haemolytic uremic syndrome: a prospective multicentric study. *Blood*. 2020 Dec 3;blood.2020009280.
29. Caetano R, Rodrigues PHA, Corrêa MCV, Villardi P, Osorio-de-Castro CGS. The case of eculizumab: litigation and purchases by the Brazilian Ministry of Health. *Rev Saúde Pública*. 2020 Feb 13;54:22.
30. Angioi A, Fervenza FC, Sethi S, Zhang Y, Smith RJ, Murray D, Van Praet J, Pani A, De Vriese AS. Diagnosis of complement alternative pathway disorders. *Kidney Int*. 2016 Feb;89(2):278–88.
31. Section 2: AKI Definition. *Kidney Int Suppl*. 2012 Mar;2(1):19–36.
32. Brocklebank V, Kumar G, Howie AJ, Chandar J, Milford DV, Craze J, Evans J, Finlay E, Freundlich M, Gale DP, Inward C, Mraz M, Jones C, Wong W, Marks SD, Connolly J, Corner BM, Smith-Jackson K, Walsh PR, Marchbank KJ, Harris CL, Wilson V, Wong EKS, Malina M, Johnson S, Sheerin NS, Kavanagh D. Long-term outcomes and response to treatment in diacylglycerol kinase epsilon nephropathy. *Kidney Int*. 2020 Jun;97(6):1260–74.
33. Palma LMP, Eick RG, Dantas GC, Tino MK dos S, de Holanda MI. Atypical hemolytic uremic syndrome in Brazil: clinical presentation, genetic findings and outcomes of a case series in adults and children treated with eculizumab. *Clin Kidney J*. 2020 Jun 22;sfaa062.
34. ; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee, Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. Standards and guidelines for the

interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–23.

35. Neto ME, de Moraes Soler L, Vasconcelos HVG, Nga HS, Bravin AM, Borges JCA, Gonçalves RC, Von Krieger RB, Quinino RM, de Mello Santana VBB, de Holanda MI, Vaisbich MH, Naseri AP, Kirsztajn GM, Palma LMP, Andrade LGM. Eculizumab interruption in atypical hemolytic uremic syndrome due to shortage: analysis of a Brazilian cohort. *J Nephrol* [Internet]. 2021 Jan 2 [cited 2021 Jan 15]; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40620-020-00920-z>

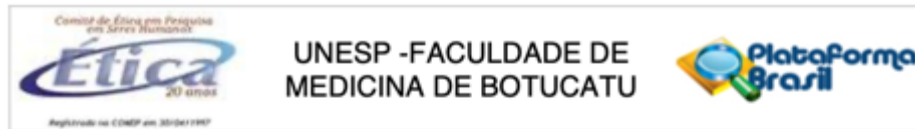
36. Abbas F, Kossi ME, Kim JJ, Sharma A, Halawa A. Thrombotic microangiopathy after renal transplantation: Current insights in *de novo* and recurrent disease. *World J Transplant*. 2018 Sep 10;8(5):122–41.

37. Cassol CA, Brodsky SV, Satoskar AA, Blissett AR, Cataland S, Nadasdy T. Eculizumab deposits in vessel walls in thrombotic microangiopathy. *Kidney Int*. 2019 Sep;96(3):761–8.

38. Wijnsma KL, Duineveld C, Wetzels JFM, van de Kar NCAJ. Eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome: strategies toward restrictive use. *Pediatr Nephrol*. 2019 Nov;34(11):2261–77.

8. ANEXOS

8.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Descontinuidade do tratamento com Eculizumabe na Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica após escassez no abastecimento no Brasil.

Pesquisador: MIGUEL ERNANDES NETO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 90838218.4.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Clínica Médica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.772.340

Apresentação do Projeto:

A Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica (SHUa) é considerada uma doença ultra rara. A incidência anual estimada nos Estados Unidos é de 1-2 casos/milhão de habitantes. Na população menor de 18 anos de idade, chega a 3,3 casos/milhão de habitantes, em dados europeus

Objetivo da Pesquisa:

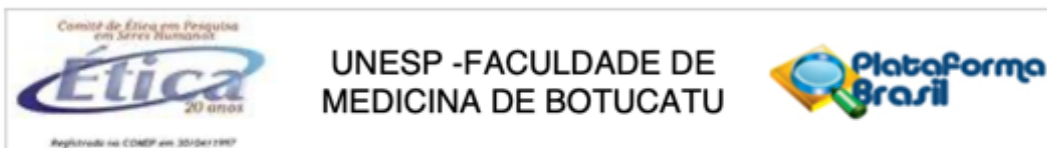
GERAL: Avaliar a evolução dos pacientes após a descontinuidade do fornecimento de Eculizumabe no Brasil em pacientes com SHUa.

PRINCIPAL: Avaliar desfechos sobre a suspensão do Eculizumabe na SHUa (mortalidade, microangiopatia trombótica, piora da função renal)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de um estudo retrospectivo com análise de dados de prontuário de pacientes com SHUa que estavam em uso de Eculizumabe descontinuado nos anos 2017 e 2018, por escassez no fornecimento da droga pelo Ministério da Saúde ou por outra causa que resultou em dificuldade de acesso ao tratamento. Para execução do estudo será solicitada a colaboração de médicos em todo território nacional que prestam assistência a esses pacientes. Enviaremos um convite eletrônico para colaboração para médicos nefrologistas responsáveis por centros de diálise e transplante renal no Brasil. Utilizaremos contato eletrônico oferecido pelo site da Sociedade Brasileira de

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609
CEP: 18.618-970
E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.772.340

Nefrologia e Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos Sólidos. Uma resposta será aguardada no período de 60 (sessenta) dias, após envio do e-mail.

Riscos: não se aplica

Benefícios: Evidência sobre a descontinuidade de Eculizumabe na SHUa.

Metodologia de Análise de Dados: A amostra será de conveniência resultando em todos os casos de SHUa nos quais houve descontinuidade de uso do Eculizumabe. Será realizada análise descritiva dos dados clínicos e realizada curva de sobrevida de Kaplan-Meier do paciente e do rim após a interrupção do uso de Eculizumabe.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é bem escrita e trará benefícios acadêmicos. Trata-se de estudo retrospectivo, proposto pelo Departamento de Clínica Médica, de casos que ocorreram no Brasil em 2017 e 2018. Não há indicação de custos ou financiamento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador anexou todos os termos obrigatórios exigidos pelo CEP-FMB, a saber, (1) folha de rosto devidamente assinada; (2) Projeto de pesquisa; (3) TCLE na forma de convite e em linguagem clara e acessível para os participantes da pesquisa (pacientes); (4) Anuência do EaP e (5) Folha de rosto devidamente assinada;

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto de pesquisa apresentado encontra-se APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 03 de julho de 2018, o projeto encontra-se APROVADO, sem necessidade de envio à CONEP. No entanto, informamos que ao final da execução da pesquisa, seja enviado o "Relatório Final de Atividades", na forma de "Notificação", via sistema Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Balro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 2.772.340

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1136599.pdf	28/05/2018 16:11:25		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEECULIZUMABE.docx	28/05/2018 16:10:30	MIGUEL ERNANDES NETO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	shortage_corrections_May2018.docx	22/05/2018 12:02:25	MIGUEL ERNANDES NETO	Aceito
Outros	anuencialInstitucional.pdf	22/05/2018 12:00:19	MIGUEL ERNANDES NETO	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostroassinada.pdf	22/05/2018 11:59:17	MIGUEL ERNANDES NETO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 16 de Julho de 2018

**Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)**

Endereço: Chácara Butignolli , s/n Bairro: Rubião Junior UF: SP Município: BOTUCATU Telefone: (14)3880-1609	CEP: 18.618-970 E-mail: cep@fmb.unesp.br
---	---

8.2. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) RESOLUÇÃO 466/2012

CONVIDO, o Senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado "Descontinuidade do tratamento com Eculizumabe na Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica após escassez no abastecimento no Brasil.", que será desenvolvido por MIGUEL ERNANDES NETO (médico Nefrologista, pós graduando do programa de Fisiopatologia em Clínica Médica), com orientação do profissional do Professor Dr. Luís Gustavo Modelli de Andrade da Faculdade de Medicina de Botucatu -UNESP.

Estou estudando SÍNDROME HEMOLÍTICO URÊMICA ATÍPICA (SHUa). Solicito seu consentimento para consultar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas como exames realizados e manifestações clínicas apresentadas, antes e depois da interrupção do uso da medicação Eculizumabe.

Este estudo poderá trazer benefícios a todos os pacientes com SHUa em uso de Eculizumabe.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descrito:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Miguel Ernandes Neto
Pesquisador

Participante da Pesquisa (ou Responsável)

Nome do participante da pesquisa:

Nome do responsável:

Nome: MIGUEL ERNANDES NETO

Email: m_ernandes@yahoo.com.br

Nome (orientador): Luís Gustavo Modelli de Andrade

Endereço: Departamento de Clínica Médica

Faculdade Medicina de Botucatu

Campus Rubião Júnior s/ n

Telefone:

8.3. Termo de Participação em Pesquisa Clínica

TERMO DE PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA CLÍNICA

Eu, _____ (nome do colaborador), CPF _____, concordo em participar do Projeto de Pesquisa intitulado “Descontinuidade do tratamento com Eculizumabe na Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica após escassez no abastecimento no Brasil”, realizado pelo pesquisador Miguel Ernandes Neto, CPF 28400105850, na Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, sob orientação de Luís Gustavo Modelli de Andrade. O projeto em questão está inscrito na PLATAFORMA BRASIL e já aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CAAE: 90838218.4.0000.5411, Número do Parecer: 2.772.340).

Estou ciente que participarei como colaborador deste projeto, oferecendo dados de _____ (_____) paciente(s), com diagnóstico de Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica que teve/tiveram interrompido o uso de Eculizumabe por pelo menos um mês. Esses dados foram coletados por mim através de instrumento de pesquisa específico oferecido pelo pesquisador, assim como o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO assinado pelo paciente ou responsável. Estou ciente que, caso minha casuística não se adeque aos critérios de inclusão ou exclusão da pesquisa, serei informado através de meu endereço eletrônico que não participarei da pesquisa e, conseqüentemente sua publicação.

Sendo possível minha colaboração nesse projeto, serei incluído na publicação fruto dessa pesquisa na qualidade de co-autor.

_____, ____ de _____ de 2018



MIQUEL ERNANDES NETO
(pesquisador principal)

Nome:
(Colaborador)

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS DO ESTUDO:
“Descontinuidade do tratamento com Eculizumabe na Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica (SHUa) após escassez no abastecimento no Brasil.”

Pesquisador: MIGUEL ERNANDES NETO

Orientação: Luís Gustavo Modelli de Andrade

DADOS DO PACIENTE

NOME (INICIAIS): _____

SEXO: M() F ()

IDADE (NO MOMENTO DA INTERRUPÇÃO DE ECULIZUMABE):

_____ DATA DE NASCIMENTO: ____/____/_____

MUTAÇÃO IDENTIFICADA:

Qual/quais?

() MUTAÇÃO não identificada, apesar de investigada

() Não tem investigação

USO DO ECULIZUMABE:

Data de início: ____/____/_____

Esquema:

() Indução: 900MG 1X/SEMANA + 1200MG NA 5ª semana

Manutenção: 1200mg quinzenal

() outro : qual?

DATA DO DIAGNÓSTICO DE SHUA:

_____/_____/_____

() Desconheço

HOUVE ALGUMA CONDIÇÃO AMPLIFICADORA DE COMPLEMENTO IDENTIFICADA NO MOMENTO DO DIAGNÓSTICO DE SHUA?

(1) sim (0) não / não se aplica

() Glomerulopatia; qual? _____

() Neoplasia; qual? _____

() Transplante renal

Manifestação de MAT durante TX: _____

() Doença auto imune; qual

() Gestação/ Parto;

() infecção viral/ bacteriana/ fúngica aguda ou crônica,
qual _____

() Uso crônico de drogas; quais

() Hipertensão Maligna

() OUTRA; qual? _____

**PACIENTE PORTADOR DE DRC dialítica durante descontinuidade de
ECULIZUMABE? () sim () Não**

Qual modalidade fazia?

() HD () DP

Paciente transplantado renal durante descontinuidade de Eculizumabe?

() sim () não

DESCONTINUIDADE DO ECULIZUMABE:

Data da ÚLTIMA DOSE: _____ / _____ / _____

RETORNO DA DROGA: _____ / _____ / _____

Exames e eventos	Antes da interrupção do Eculizumabe	Entre 15 dias e 90 dias após interrupção (____) dias	Entre 90 dias e 180 dias após interrupção (____) dias	Entre 180 dias e 365 dias após interrupção (____) dias
HEMOGLOBINA/ HEMATÓCRITO (descrever em todos períodos)				
PRESENÇA DE ESQUIZÓCITOS (SIM OU NÃO)				
LACTATO DESIDROGENAS E (DHL)				
HAPTOGLOBIN A (REFERÊNCIA: _____)				
C3 (REFERÊNCIA: _____)				
CH50 (REFERÊNCIA: _____)				
PLAQUETAS				
CREATININA SÉRICA (descrever em todos períodos)				
DIÁLISE (INÍCIO)				
Transplante renal neste período sem Eculizumabe				

(descrever creatinina em todos períodos)				
Gestação/parto no período sem Eculizumabe				
Intercorrência clínica no período (relatar no espaço livre)				
MORTE				
TEMPO DE SEGUIMENTO (EM DIAS)	SEGUIMENTO SEM ECULIZUMABE			
	SEGUIMENTO TOTAL DO PACIENTE			

Espaço livre para relatar ou especificar algo que não foi contemplado por este instrumento

9. APÊNDICES

9.1. Descrição da técnica de painel para SHUa

Todos os dados de análises genéticas acessados, foram análises realizadas pelo laboratório CENTOGENE lab, The Rare Disease Company (Schillingasse 68 - 18057 Rostock/Germany).

Para Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica, o painel realizado consta de codificação de região inteira dos genes *ADAMTS13*, *C3*, *CD46*, *CFB*, *CFH*, *CFHR1*, *CFHR2*, *CFHR3*, *CFHR5*, *CFI*, *DGKE*, *PIGA*, *THBD* incluindo sequência paralela de 10 pares de bases intrônicas amplificadas e sequenciadas. Análise dos dados brutos sequenciados, incluindo a chamada de base, demultiplexação, alinhamento para genoma humano de referências hg19, (*Genome Reference Consortium GRCh37*) e variantes foram realizadas com uso de um software no próprio laboratório.

Todas as variantes identificadas foram avaliadas quanto sua patogenicidade e causalidade, e reportadas como patogênicas, provavelmente patogênicas e variantes de significado indeterminado de acordo com diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*. Todas variantes exceto as benignas ou provavelmente benignas foram reportadas. A análise não inclui variações de número de cópias ou deleções/duplicações grandes.

Análise de MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) foram realizadas utilizando SALSA MLPA probemix P236-A3 fornecido pela MRC-Holland para testar deleções ou duplicações dentro ou que incluem os genes *CFH*, *CFHR1*, *CFHR2*, *CFHR3*, *CFHR5*.

TOMO II

a) Artigo: “Eculizumab interruption in atypical hemolytic uremic syndrome due to shortage: analysis of a Brazilian cohort”, publicado na revista *Journal of Nephrology* em janeiro de 2021 (DOI 10.1007/s40620-020-00920-z)

Journal of Nephrology
https://doi.org/10.1007/s40620-020-00920-z

ORIGINAL ARTICLE



Eculizumab interruption in atypical hemolytic uremic syndrome due to shortage: analysis of a Brazilian cohort

Miguel Ernandes Neto^{1,2} · Lucas de Moraes Soler¹ · Halita Vieira Gallindo Vasconcelos³ · Hong Si Nga¹ · Ariane Moyses Bravin¹ · Julio Cesar Andriotti Borges⁴ · Rodrigo Costa Gonçalves⁵ · Rodrigo Brum Von Krieger⁵ · Raquel Martins Quinino⁶ · Viviane Brandão Bandeira de Mello Santana⁷ · Maria Izabel de Holanda⁸ · Maria Helena Vaisbich⁹ · Alice Pignatton Naseri¹⁰ · Gianna Mastroianni Kirsztajn¹¹ · Lilian Monteiro Pereira Palma¹² · Luís Gustavo Modelli Andrade¹

Received: 5 August 2020 / Accepted: 15 November 2020
© Italian Society of Nephrology 2021

Abstract

Background The risk of eculizumab therapy discontinuation in patients with atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is unclear. The main objective of this study was to analyze the risk of aHUS relapse after eculizumab interruption due to drug shortage in Brazil.

Methods We screened all the registered dialysis centers in Brazil (n = 800), willing to participate in the aHUS Brazilian shortage cohort, through electronic mail and formal invitation by the Brazilian Society of Nephrology. We included patients with aHUS whose eculizumab therapy underwent unplanned discontinuation for at least 30 days between January 1st, 2016 and December 31st, 2019 during the maintenance phase of treatment. Relapse was defined by the development of thrombocytopenia, hemolytic anemia, acute kidney injury or thrombotic microangiopathy (TMA) in a kidney biopsy.

Results We analyzed 25 episodes of exposure to risk of relapse, from 24 patients. Median age was 33 (6–53) years, 18 (72%) were female, 9 (36%) had a functioning renal graft, 5 (20%) were undergoing dialysis. *CFH* variant was found in 8 (32%) episodes. There were 11 relapses. The risk of relapse was 34%, 44.5% and 58% at 114, 150 and 397 days, respectively. No baseline variable was related to relapse in Cox multivariate analysis, including *CFH* variant.

Conclusions In this study, the cumulative incidence of aHUS relapse at 397 days was 58% after eculizumab interruption. The presence of complement variant does not seem to be associated with a higher relapse rate. The eculizumab interruption was deemed not safe, considering that the rate of relapse was high.

Keywords Atypical hemolytic uremic syndrome · Eculizumab · Complement inactivating agents

Introduction

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is complement-mediated thrombotic microangiopathy (TMA) caused by dysregulated activity of the alternative pathway. aHUS is an ultra-rare disease with a reported incidence of approximately 0.5 per million per year. At least half of the patients

have an inherited and/or acquired complement abnormality [1].

After approval of eculizumab, a humanized monoclonal antibody against C5, by the *US Food and Drug Administration* and the *European Medicines Agency* in 2011, prospective studies have shown safety and efficacy of terminal complement-inhibition in the management of adults and children with aHUS [2–5].

(Although eculizumab is a life-long treatment, its high cost and risk of severe adverse effects, such as meningococcal infection, have been under discussion with the discontinuation of eculizumab therapy [6–8].)

Some retrospective studies assessed the discontinuation of eculizumab therapy in aHUS patients but there are still no conclusive results. Pathogenic variants in complement genes

Supplementary Information The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s40620-020-00920-z>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Miguel Ernandes Neto
m_ernandes@yahoo.com.br

Extended author information available on the last page of the article

Published online: 02 January 2021

Springer

have been associated with a higher rate of aHUS relapse [8–11]. Prospective studies are being performed to investigate the safety of discontinuation under a planned protocol (NCT 02574403).

In Brazil the medication is provided by the government under judicial decision and aHUS patients receive the drug through federal purchases. In 2017, the Brazilian federal police conducted an operation to investigate fraud in purchases of drugs that are used to treat rare diseases, including eculizumab [12]. After that, the National Press reported many cases of eculizumab interruption due to a shortage in Brazil. This tragic episode provided an opportunity for a natural experiment to evaluate the course of unplanned eculizumab discontinuation and episodes of aHUS relapses.

Materials and methods

Study population

Through electronic mail and formal invitation by the Brazilian Society of Nephrology, we screened all dialysis centers in Brazil ($n = 800$) that were interested in taking part in the aHUS Brazilian shortage cohort.

Inclusion and exclusion criteria

We included patients with aHUS who discontinued eculizumab therapy for at least 30 days, between January 1st, 2016 and December 31st, 2019 in the maintenance phase of eculizumab (more than 6 months of eculizumab use). The discontinuation of eculizumab was unplanned and motivated by the government supply shortage.

We excluded patients with planned discontinuation or discontinuation for medical reasons. Patients with a doubtful diagnosis of aHUS or only non-complement-related genetic variants (Diacylglycerol Kinase Epsilon—*DGKE*) were also excluded. *DGKE*-mediated aHUS was excluded as it is eculizumab non-responsive [13].

Renal transplant patients did not necessarily receive a diagnosis of aHUS prior to kidney transplantation.

Therapy

All the patients had undergone approved intravenous eculizumab dose (900 mg/week for 4 weeks, 1,200 mg at week 5 and then every 2 weeks indefinitely).

We defined interruption as at least 30 days without receiving a maintenance dosage of the eculizumab (lack of at least 2 doses of the drug), without a patient and medical decision based on genetic investigation.

Definition of aHUS

The diagnosis of aHUS was established by the finding of thrombotic microangiopathy, defined by the triad: microangiopathic hemolytic anemia (decreased hemoglobin, presence of fragmented red blood cells, increased LDH, negative direct Coombs test), thrombocytopenia or 25% decrease in the number of platelets and decreasing glomerular filtration rate, exclusion of the use of drugs, infections or other potential secondary causes [14]. Thrombotic thrombocytopenic purpura and Shiga toxin-producing *E. coli*-associated hemolytic uremic syndrome were excluded in all cases. The diagnoses, which were made by primary care physicians, were reviewed when the cases were elected to the Brazilian cohort study.

Clinical data

Evaluated data were age, sex, time on eculizumab therapy, kidney status (native kidney, kidney transplant with functioning renal graft, undergoing dialysis), and genetic study.

Genetic analysis

For the atypical hemolytic uremic syndrome panel, the entire coding region of the *ADAMTS13*, *C3*, *CD46*, *CFB*, *CFH*, *CFHR1*, *CFHR2*, *CFHR3*, *CFHR5*, *CFI*, *DGKE*, *PIGA*, *THBD* genes including 10 bp of intronic flanking sequences were amplified and sequenced in the majority of cases. In Brazil, all analyses are performed according to the protocol described by Lilian et al. [15]. Antibody anti-CFH level was not performed because it is unavailable in Brazil.

We divided variants according to loss of function (*CFH*, *CFHR1*, *CFHR1-CFHR3*, *CFHR5*, *CFI*), gain of function (*C3*) and non-complement-related genetic variants (*DGKE*). All identified variants were evaluated regarding their pathogenicity and causality. All variants except benign or likely benign variants were reported.

Exposure to risk

The exposure to the risk of aHUS relapse was assessed when a patient under regular eculizumab treatment (more than 100 days) discontinued the use of the drug for more than 30 days (2 doses). If the patients resumed the use of eculizumab for more than 6 months and then had therapy interrupted again, we considered that as a new episode risk.

Primary endpoint

We considered aHUS relapse as the primary endpoint. Relapse was defined as the presence of at least two of the following features, (ruled out an alternative diagnosis):

1. Thrombocytopenia (platelet count $< 150 \times 10^3/\mu\text{L}$).
2. Mechanical hemolytic anemia (Hb < 10 g/dL, LDH $>$ upper limit of normal, undetectable haptoglobin, presence of fragmented red blood cells on blood smear).
3. Acute kidney injury ($> 1.5 \times$ serum creatinine increase from baseline).
4. Features of thrombotic microangiopathy (glomerular and/or arteriolar thrombi, double contours of glomerular basement membrane, detachment of endothelial cells) in performed kidney biopsy at the time of suspected relapse.

Outcomes

Hemolytic anemia investigation was performed by using blood count associated with platelet count and fragmented red blood cells, LDH and haptoglobin measurement. Analysis of kidney function was performed by measuring serum creatinine. Urinalysis results were not provided. These clinical variables were evaluated before and after eculizumab interruption. We also evaluated the clinical outcomes of death and need to start dialysis.

Relapses were treated by the primary care physicians according to local protocols of treatment—including plasmapheresis—because eculizumab was unavailable at that time. The only child who received the drug—with remission—for a few months was an exception.

Statistical analysis

Baseline variables are presented as mean and standard deviation and median and interquartile ranges when appropriate. We used the Kaplan–Meier survival analysis to estimate the risk of relapse over time. A Cox regression model was used to evaluate predictors that might be associated with relapse (primary endpoint). The analysis was done in R 3.6.3 with the survival and survminer package.

Results

Baseline characteristics

We retrieved data from 11 different centers throughout Brazil out of 800 centers. We screened 25 patients with aHUS and 26 episodes of exposure to risk after interruption of eculizumab therapy. One patient was excluded (only *DKGE*

variant). We analyzed 24 patients with 25 episodes of exposure to risk (Fig. 1). Median age was 33 (6–53) years, 18 (72%) were female, 9 (36%) had a functioning renal graft and 5 (20%) were undergoing dialysis. In 22 episodes, eculizumab use had been ongoing for longer than 365 days before interruption (Table 1). The majority of discontinuation episodes occurred in 2017 ($n = 21$, 84%).

Genetic characteristics

Among all episodes, 16 (64%) were associated with any complement variant. *CFH* variant was found in 8 (32%) episodes, *CFHR1-CFHR3* variant in 8 (32%) and *C3* variant in 5 (20%) (Table 1).

Relapses

We had a total of 11 cases of relapses in the 25 episodes that were evaluated. The risk of aHUS relapse was 34% at 114 days, 44.5% at 150 days and reached the maximum of 58% at 397 days (Fig. 2). One transplant patient lost their graft and restarted hemodialysis, whilst another patient died, both cases were associated with aHUS relapse (Fig. 3). In our sample, no extra-renal manifestations were reported.

We assessed the relapses in patients with *CFH* variant. No differences were found in patients with or without the *CFH* variant in the Kaplan–Meier cumulative incidence analysis (Fig. 4).

We ran a Kaplan–Meier analysis of patients with and without functioning kidney graft (supplementary 1). Although the renal transplant patients seemed to relapse earlier, we found no statistical difference between these two groups ($p = 0.31$).

In the Cox regression multivariate analysis, we assessed age, sex, dialysis, kidney transplant, and genetic characteristics as independent predictors of relapse after eculizumab

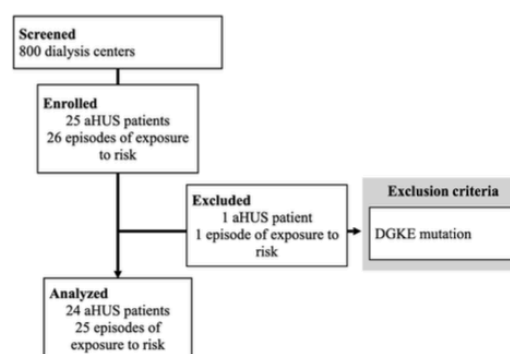


Fig. 1 Study flow diagram

Table 1 Baseline characteristics according to episodes of exposure to risk after eculizumab therapy discontinuation

Parameters	n = 25
Median age, years (range)	33 (6–53)
Sex, n (%)	
Female	18 (72)
Male	7 (28)
Kidney transplant, n (%)	9 (36)
Dialysis, n (%)	5 (20)
Duration of drug use (days), n (%)	
< 365	3 (12)
150	1 (4)
182	1 (4)
350	1 (4)
> 365	22 (88)
Complement genes, n (%)	
Any variant identified	16 (64)
<i>CFH</i>	8 (32)
<i>CFI</i>	2 (8)
<i>C3</i>	5 (20)
<i>CFHRI-CFHR3</i>	8 (32)
<i>CFHRI</i>	2 (8)
<i>CFHR5</i>	4 (16)
<i>CFB</i>	1 (4)
None	4 (16)
Not investigated	5 (20)

No genetic variant was identified by a aHUS panel

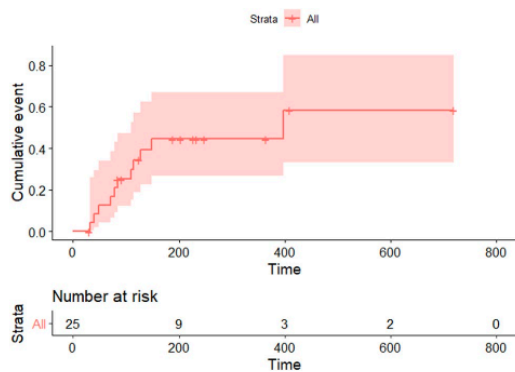


Fig. 2 One minus cumulative incidence of aHUS relapse

discontinuation. None of these variables were associated with aHUS relapse (Table 2). All the episodes of exposure to risk and their clinical characteristics, standardized genetic findings [16], and the presence of aHUS relapse are reported in Table 3.

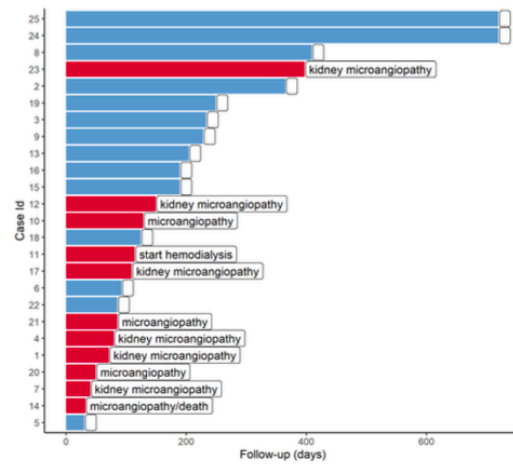


Fig. 3 Outcomes over time in each episode of exposure to risk. Microangiopathy = laboratory features of hemolytic anemia or thrombocytopenia; Kidney microangiopathy = kidney injury and laboratory features of hemolytic anemia or thrombocytopenia

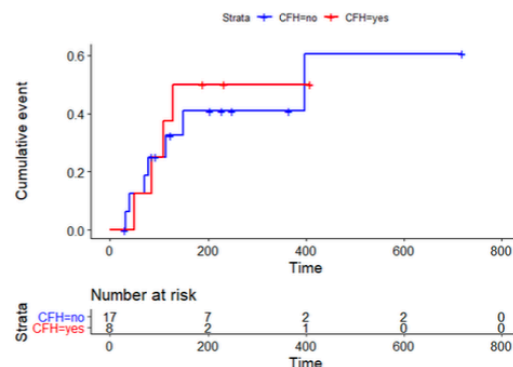


Fig. 4 Comparative incidence of relapsing in patients with or without CFH

Discussion

In this study we evaluated 25 episodes of eculizumab interruption in 24 patients with aHUS and found a high rate of aHUS relapse. Due to the lack of clinical trials the possibility of eculizumab discontinuation remains unclear. Other published observational studies analyzed eculizumab discontinuation and showed an incidence of aHUS relapse of about 30% [10, 11, 15], whereas the present study showed a higher incidence in an unplanned discontinuation (58%).

The majority of eculizumab interruption episodes occurred in 2017 and were probably due to legal issues

Table 2 Independent predictors of relapsing after eculizumab discontinuation in multivariate Cox regression analysis

Variables	Cox regression analysis	
	HR (95% CI)	p value
Age	0.97 (0.89–1.04)	0.38
Sex, male	0.84 (0.15–4.7)	0.84
Dialysis	0.50 (0.03–7.28)	0.61
Kidney transplant	1.37 (0.25–7.65)	0.72
Variant: none	1.49 (0.18–12.13)	0.71
Variant: not investigated	0.68 (0.05–8.52)	0.77
Variant: <i>CFH</i>	1.23 (0.23–6.64)	0.81

Age is per year; sex male yes or no; patient in dialysis yes or no; functioning kidney transplant yes or no; variant: none, not investigated; *CFH* yes or no. HR, hazard ratio; 95% CI, 95% confidence interval

related to drug availability, leading to difficulties in supply. Impossibility to acquire the medication led most of the physicians to adopt a close monitoring approach without a specific protocol. The patients did not have immediate access to the medication to treat aHUS relapse. Besides a higher rate of aHUS relapse, two major events occurred in this cohort causing death and loss of kidney graft.

(In our cohort were identified any type of genetic variants in 64% of the episodes. Most part of them were *CFH*, *C3*, and *CFI*.) The *CFH* variant, which is a frequent variant in aHUS cases, was shown to be related to the earliest onset and high risk of relapse in some Italian and French studies. Our multivariate analysis did not show a higher incidence of relapse among episodes of exposure to risk related to the *CFH* variant, although the relatively small sample size may explain these findings. In addition, our cohort has very specific genetic characteristics, such as the absence of the *CD46* variant and the impossibility to detect antibodies against factor H. However, we did find a higher prevalence of the *C3* variant than in the Italian and French cohorts [9–11, 17].

Eculizumab deposits in renal arterioles can remain detectable until 5 months after drug withdrawal [18]. Therefore, a

residual inhibitory effect on the complement system could justify the late appearance of relapses.

We had 44% of relapses in 9 episodes of risk in patients with functioning renal graft. Recurrent TMA may depend on genetic abnormalities in renal transplantation [19]. Furthermore, clinical manifestations and histopathological features may not be present at the same time [1]. Perhaps protocol biopsy after eculizumab discontinuation should be performed to identify relapses during the follow-up of these aHUS patients.

The discontinuation studies used laboratory and clinical features related to TMA as a diagnostic tool to assess relapse in aHUS patients [8–11]. The decision to resume the drug before the occurrence of unfavorable outcomes—clinical manifestations or overt TMA—must lay on a detailed follow-up of both eculizumab levels and complement activity. Future perspectives might move towards restrictive use and individualized prescription [20].

This study is retrospective and presents limitations. Several collaborators collected data from medical records. All exams, including genetic studies, were performed in different laboratory centers. This study screened a small number of patients with an ultra-rare disease and perhaps the follow-up time was not long enough to assess outcomes, especially in milder variants. Not all dialysis centers participated—only 11 out of 800 in Brazil—in the analysis, and thus possibly more patients at risk were not included in the study. In addition, we included patients undergoing dialysis (who provide limited features about)??? renal results. Despite these limitations, this study had an unfortunate but unique opportunity to evaluate abrupt eculizumab interruption.

In conclusion, the cumulative incidence of aHUS relapse reached 58% after 397 days of eculizumab discontinuation. The eculizumab interruption was deemed not safe, considering that the rate of relapse was high. In this cohort, despite the study limitations described above, the presence of *CFH*, the complement variant, does not seem to be associated with a higher rate of relapse. Very important implications in ethical and financial terms require eculizumab interruption to be avoided.

Table 3 Characteristics of patients who had their eculizumab therapy discontinued

Epi-sodes	Sex	Age (years)	Kidney status	Duration of therapy (days)	Duration of discontinuation (days)	Relapse	Genes	Genetic description ^b	Allele frequency GnomAD/ABraOM
1	F	38	Tx	>365	71	Yes	Not investigated		
2	M	34	Tx	>365	365	No	None		
3	M	25	Tx	>365	233	No	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i>	Heterozygous variant <i>CFH</i> (c.3148A>T; p.Asn1050Tyr) Homozygous deletion in <i>CFH</i> Homozygous deletion encompassing in <i>CFHR1-CFHR3</i> Homozygous likely pathogenic deletion encompassing exon 23 in <i>CFH</i>	1.47e-2/1.64e-2 - -
4	F	37	Tx	>365	79	Yes	None		
5	M	33	Tx	350	30	No	<i>C3</i> <i>DGKE</i>	Heterozygous variant <i>C3</i> (c.463A>C; p.Lys155Gln) Heterozygous VUS in <i>DGKE</i> (c.318C>G; p.Phe106Leu)	2.7e-3/ND 1.87e-4/ND
6	F	19	Tx	>365	92	No	None		
7	M	34	Tx	150	40	Yes	<i>CFI</i> / <i>CFB</i>	Heterozygous likely PV in <i>CFI</i> (c.1246A>C; p.Ile416Leu+c.1071T>G; p.Ile357Met) Heterozygous VUS in <i>CFB</i> (c.1505T>C; p.Ile502Thr)	1.22e-3/4.1e-3 3.58e-5/8.2e-4 2.03e-5/ND
8	F	25	Native	>365	409	No	<i>CFH</i> <i>CFHR5</i>	Heterozygous variant <i>CFH</i> (c.1111C>A; p.His371Asn) Heterozygous variants <i>CFHR5</i> (c.232T>C; p.Ser78Pro+c.835T>A; p.Tyr279Asn+c.986_988del; p.Lys329del)	8.15e-5/ND 1.2e-4/ND+1.27e-4/ND+7.83e-5/ND
9	M	46	Native	>365	228	No	Not investigated		
10	F	43	Dialysis	>365	128	Yes	<i>CFH</i> <i>C3</i>	Heterozygous VUS in <i>CFH</i> (c.3473C>G; p.Ser1158*) Heterozygous VUS in <i>C3</i> (c.3593A>G; p.Gln1198Arg)	ND/ND 3.98e-5/ND
11	F	27	Tx	182	114	Yes	<i>CFI</i> <i>CFHR1-CFHR3</i>	Heterozygous variant <i>C3</i> (c.193A>C+pp.Lys65Gln) Heterozygous variant <i>CFI</i> (c.530A>T+pp.Asn171Ile) Heterozygous deletion encompassing in <i>CFHR1-CFHR3</i>	4.77e-5/8.2e-4 6.37e-5/8.2e-4
12	F	21	Native	>365	149	Yes	<i>CFHR1-CFHR3</i>	Heterozygous VUS deletion in <i>CFHR1-CFHR3</i>	-
13	F	33	Native	>365	204	No	<i>C3</i> <i>CFHR1-CFHR1-CFHR3</i>	Heterozygous variant <i>C3</i> (c.3100T>C; p.Trp1034Arg) Homozygous variant <i>CFHR1</i> (c.614C>T; p.Thr205Met) Heterozygous VUS deletion in <i>CFHR1-CFHR3</i>	ND/ND 5.81e-2/ND -
14	F	30	Native	>365	32	Yes	none		
15	F	46	Dialysis	>365	189	No	<i>CFH</i>	Homozygous likely PV in <i>CFH</i> (c.1756C>T; p.Gln586*)	ND/ND
16	F	53	Dialysis	>365	189	No	<i>CFH</i>	Homozygous likely PV in <i>CFH</i> (c.1756C>T; p.Gln586*)	ND/ND
17	F	34	Native	>365	109	Yes	<i>CFH</i>	Heterozygous variant <i>CFH</i> (c.3572C>T; p.Ser1191Leu)	ND/ND
18	F	32	Native	>365	124	No	Not investigated		
19	F	34	Dialysis	>365	249	No	Not investigated		
20*	M	6	Native	>365	49	Yes	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i> <i>CFHR5</i>	Heterozygous PV in <i>CFH</i> (c.3548G>T; p.Trp1183Ile) Heterozygous deletion encompassing in <i>CFHR1-CFHR3</i> Heterozygous VUS in <i>CFHR5</i> (c.1664G>C; p.Arg555Pro)	ND/ND -
21*	M	6	Native	>365	85	Yes	<i>CFH</i> <i>CFHR1-CFHR3</i> <i>CFHR5</i>	Heterozygous PV in <i>CFH</i> (c.3548G>T; p.Trp1183Ile) Heterozygous deletion encompassing in <i>CFHR1-CFHR3</i> Heterozygous VUS in <i>CFHR5</i> (c.1664G>C; p.Arg555Pro)	8.13e-5/1.64e-3 ND/ND
22	F	36	Tx	>365	85	No	<i>CFHR1</i> <i>CFHR5</i>	Heterozygous deletion encompassing in <i>CFHR1-CFHR3</i> Heterozygous VUS in <i>CFHR5</i> (c.1664G>C; p.Arg555Pro) Heterozygous VUS involving duplication <i>CFHR1</i> in exon 6 Heterozygous VUS in <i>CFHR5</i> (c.254_2_266dup; p.Ser88_Phe89insLeuGlyMet-CysSer)	- 8.13e-5/1.64e-3 - 9.26e-4/ND

Table 3 (continued)

Epi- sodes	Sex	Age (years)	Kidney status	Duration of therapy (days)	Duration of discontinuation (days)	Relapse	Genes	Genetic description ^b	Allele frequency GnomAD/ABraOM
23	F	29	Native	> 365	397	Yes	C3 CFHRI-CFHRS	Heterozygous VUS in C3 (c.188C>G; p.Pro63Arg)	ND/ND
24	F	30	Native	> 365	720	No	CFHRI-CFHRS	Homozygous VUS deletion in CFHRI-CFHRS	-
25	F	31	Dialysis	> 365	720	No	CFHRI-CFHRS not investigated	Heterozygous deletion in CFHRI-CFHRS	-

Tx transplant (functioning renal graft); none not identified mutation after genetic study; PV pathogenic variant; VUS variant of unknown significance; CFH complement factor H; CFHRI, CFHRS, CFHR5 CFH-related genes CFHRI, CFHR3, CFHRS; CFI complement factor I; CFB complement factor B, DGKE diacylglycerol kinase epsilon

GnomAD: Genome Aggregation Database (<https://gnomad.broadinstitute.org>)

ABraOM: Brazilian Genomic Variants (<http://abraom.ib.usp.br>)

^aDifferent episodes of the same patient

^bPathogenic variants was described according to American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

Acknowledgements The authors thank: Danilo Euclides Fernandes MSc from Department of Medicine, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil and Ms. Simone Manetti from Seven Language School, São Paulo, SP, Brazil for proofreading the manuscript.

Author contributions MEN and LGMA were involved in the conception and design of the research, and interpreted the results. MEN was the main author and LGMA provided mentorship and performed statistical analysis. MEN, LGMA, LMS, HVG, HSN, AMB, JCAB, RCG, RBVK, RMQ, VBBMS, APN, MIH, LMPP, MHV and GMK contributed to collecting data and revising the article. All authors edited, revised and approved the final version of the manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest M.I.H., M.H.V., L.M.P.P. and L.G.M.A. have received fees for participation in teaching courses from Alexion Pharmaceuticals as speakers. M.E.N., L.M.S., H.V.G.V, H.S.N., A.M.B., J.C.A.B., R.C.G., R.B.V.K., R.M.Q., V.B.B.M.S., A.P.N. and G.M.K. have no competing interests to declare.

Ethical approval The study protocol was approved by the Ethics Committee of Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo State University (ethics number: 2.772.340). The study was performed according to the Declaration of Helsinki. All participants provided written consent.


References

- Goodship THJ, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D et al (2017) Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 91(3):539–551
- Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C et al (2013) Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 368(23):2169–2181
- Licht C, Greenbaum LA, Muus P, Babu S, Bedrosian CL, Cohen DJ et al (2015) Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int* 87(5):1061–1073
- Fakhouri F, Hourmant M, Campistol JM, Cataland SR, Espinosa M, Gaber AO et al (2016) Terminal complement inhibitor eculizumab in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome: a single-arm, open-label trial. *Am J Kidney Dis* 68(1):84–93
- Greenbaum LA, Fila M, Ardissino G, Al-Akash SI, Evans J, Henning P et al (2016) Eculizumab is a safe and effective treatment in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 89(3):701–711
- Rodriguez E, Barrios C, Soler MJ (2017) Shouldeculizumab be discontinued in patients with atypical hemolytic uremic syndrome? *Clin Kidney J* 10(3):320–322
- Olson SR, Lu E, Sulpizio E, Shatzel JJ, Rueda JF, DeLoughery TG (2018) When to stop eculizumab in complement-mediated thrombotic microangiopathies. *Am J Nephrol* 48(2):96–107
- Macia M, de Alvaro Moreno F, Dutt T, Fehrman I, Hadaya K, Gasteyer C et al (2017) Current evidence on the discontinuation of eculizumab in patients with atypical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Kidney J* 10(3):310–319

9. Ardissino G, Testa S, Possenti I, Tel F, Paglialonga F, Salardi S et al (2014) Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: a report of 10 cases. *Am J Kidney Dis* 64(4):633–637
10. Ardissino G, Possenti I, Tel F, Testa S, Salardi S, Ladisa V (2015) Discontinuation of eculizumab treatment in atypical hemolytic uremic syndrome: an update. *Am J Kidney Dis* 66(1):172–173
11. Fakhouri F, Fila M, Provôt F, Delmas Y, Barbet C, Châtelet V et al (2017) Pathogenic variants in complement genes and risk of atypical hemolytic uremic syndrome relapse after eculizumab discontinuation. *Clin J Am SocNephrol*. 12(1):50–59
12. Caetano R, Rodrigues PHA, Corrêa MCV, Villardi P, Osorio-de-Castro CGS (2020) The case of eculizumab: litigation and purchases by the Brazilian Ministry of Health. *Rev SaúdePública* 54:22
13. Brocklebank V, Kumar G, Howie AJ, Chandar J, Milford DV, Craze J et al (2020) Long-term outcomes and response to treatment in diacylglycerol kinase epsilon nephropathy. *Kidney Int* 97(6):1260–1274
14. Nester CM, Barbour T, de Cordoba SR, Dragon-Durey MA, Fremaux-Bacchi V, Goodship THJ et al (2015) Atypical aHUS: state of the art. *MolImmunol* 67(1):31–42
15. Palma LMP, Eick RG, Dantas GC, Tino MKS, de Holanda MI (2020) Atypical hemolytic uremic syndrome in Brazil: clinical presentation, genetic findings and outcomes of a case series in adults and children treated with eculizumab. *Clin Kidney J* 13(3):1–10
16. On behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee, Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S et al (2015) Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17(5):405–423
17. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S et al (2010) Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am SocNephrol* 5(10):1844–1859
18. Cassol CA, Brodsky SV, Satoskar AA, Blissett AR, Cataland S, Nadasdy T (2019) Eculizumab deposits in vessel walls in thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 96(3):761–768
19. Abbas F, Kossi ME, Kim JJ, Sharma A, Halawa A (2018) Thrombotic microangiopathy after renal transplantation: current insights in de novo and recurrent disease. *World J Transplant* 8(5):122–141
20. Wijnsma KL, Duineveld C, Wetzels JFM, van de Kar NCAJ (2019) Eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome: strategies toward restrictive use. *PediatrNephrol* 34(11):2261–2277

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Affiliations

Miguel Ernandes Neto^{1,2}  · Lucas de Moraes Soler¹ · Halita Vieira Gallindo Vasconcelos³ · Hong Si Nga¹ · Ariane Moyses Bravin¹ · Julio Cesar Andriotti Borges⁴ · Rodrigo Costa Gonçalves⁵ · Rodrigo Brum Von Krieger⁵ · Raquel Martins Quinino⁶ · Viviane Brandão Bandeira de Mello Santana⁷ · Maria Izabel de Holanda⁸ · Maria Helena Vaisbich⁹ · Alice Pignaton Naseri¹⁰ · Gianna Mastroianni Kirsztajn¹¹ · Lilian Monteiro Pereira Palma¹² · Luís Gustavo Modelli Andrade¹

¹ Department of Internal Medicine, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

² Hospital BP-a Beneficência Portuguesa de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

³ Departamento de Nefrologia da Santa Casa de São Carlos, São Carlos, SP, Brazil

⁴ Fresenius Medical Care-Unidade Perdizes, São Paulo, SP, Brazil

⁵ Hospital de Urgências Governador Otávio Lage de Siqueira (HUGOL), Goiânia, GO, Brazil

⁶ Hospital Universitário Onofre Lopes, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brazil

⁷ Instituto Hospital de Base, Brasília, DF, Brazil

⁸ Hospital Federal de Bonsucesso-Serviço de Nefrologia e Transplante, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁹ Instituto da Criança-University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

¹⁰ Setor de Nefrologia da Unidade de Gestão de Transplantes da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil

¹¹ Departamento de Medicina (Nefrologia) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

¹² Nefrologia Pediátrica-Departamento de Pediatria da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

- b) Convite para autor do capítulo, já escrito e entregue à editora:
“Avaliação laboratorial nas microangiopatias trombóticas” no livro, ainda não publicado “Avaliação Laboratorial em Nefrologia – Manual Prático Para Uso Diário Ambulatorial e Hospitalar organizado pela Profa. Dra. Gianna Mastroianni Kirsztajn – UNIFESP (2020)

Yahoo Mail - RES: Convite para capítulo

04/08/2020 12:19

RES: Convite para capítulo

De: Dra. Gianna Mastroianni Kirsztajn (giannamk@uol.com.br)
Para: m_ernandes@yahoo.com.br
Data: segunda-feira, 20 de janeiro de 2020 17:35 BRT

Prezado Dr. Miguel,

Informo extensão do prazo para 08/02/2020.
Estamos à disposição para qualquer dúvida.

Atenciosamente,
Gianna M. Kirsztajn

Prezado Dr. Miguel Ernandes Neto,

Em nome da Balieiro, a Profa. Dra. Gianna Mastroianni Kirsztajn, Organizadora da Série “Manual Prático”, tem o prazer de convidá-lo a escrever como Colaborador o Capítulo “Avaliação laboratorial nas microangiopatias trombóticas” da obra:

*Avaliação Laboratorial em Nefrologia -
Manual Prático para Uso Diário Ambulatorial e Hospitalar*

Caso aceite, o que muito nos honrará, o Sr. [pode convidar no máximo um Colaborador](#). Situações peculiares poderão ser discutidas com a editora.

O prazo para entrega de seu Capítulo é 30 de dezembro de 2019, e deverá ser enviado para este e-mail (editora@livrariabalieiro.com.br) com cópia para Dra. Gianna (dra.gianna@gmail.com).

A seguir, encontram-se as instruções básicas para confecção de seu Capítulo. Solicitamos que seja mantida esta estrutura devido à padronização necessária para este tipo de livro.

Sugerimos digitação em corpo 12 com entrelinha de 1,5 para facilitar a revisão, o projeto gráfico e a editoração do texto. As figuras e/ou fotos devem ser entregues com resolução mínima de 300dpi.

Os capítulos são breves (com 15 a 20 páginas), por tratar-se de Manual Prático para uso no dia a dia ambulatorial e hospitalar.

Aspectos que não se encaixem e sejam considerados essenciais pelos autores podem ser

contemplados na Introdução ou nas Informações Básicas.

Alertamos que **não** podem ser usadas imagens (fluxogramas, figuras, quadros, tabelas) de outros livros ou artigos. Esses devem ser produzidos pelo autor, mesmo que inspirados em outros (que deverão ser citados como fonte de consulta nas referências).

No caso de fotografia de exames, incluindo exames histopatológicos ou de imagem, deve ser informado se ela é do acervo pessoal dos autores ou cedida por profissional cujo nome deve ser citado, assim como explicitado que foi por ele cedida para o autor.

1. Introdução - 1 ou 2 parágrafos.

Deve fazer a introdução ao tema de forma breve, sua relevância e conceitos necessários para a compreensão do capítulo, que digam respeito à doença/distúrbio ou ao tipo de investigação a ser realizado.

2. Informações Básicas - sobre a doença ou distúrbio.

Não é essencial separar nos subitens 2.1. a 2.5. Pode ser texto corrido.

2.1. Definição - 1 parágrafo apenas.

Definir claramente a doença, especificando os critérios clínicos e laboratoriais essenciais para a sua caracterização.

2.2. Epidemiologia - 1 parágrafo; só incluir se apropriado.

2.3. Etiologia - 1 ou 2 parágrafos breves; uma ou duas tabelas e/ou quadros.

Descrever os fatores etiológicos. Incluir uma classificação etiológica se considerar pertinente, apresentada na forma de tabela e/ou quadro.

2.4. Fisiopatologia - 1 ou 2 parágrafos breves; uma ou duas tabelas e/ou quadros e/ou fluxogramas.

Quando pertinente, descrever de forma sucinta os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento, manutenção e progressão da doença. Incluir figuras, quadros e/ou fluxogramas se apropriado para ilustrar, complementar e/ou resumir as informações do texto.

2.5. Não há necessidade de discutir tratamento no Capítulo. Qualquer menção breve sobre o assunto, se apropriada, pode ser feita na Introdução ou nas Informações básicas.

3. Quadro Clínico - 1 ou 2 parágrafos breves; 1 ou 2 tabelas e/ou quadros e/ou figuras.

Descrever os aspectos clínicos da doença. A gravidade, evolução clínica, estágios da doença e fatores prognósticos podem ser apresentados de forma resumida.

Incentiva-se o uso de tabelas e/ou quadros para ilustrar, complementar e/ou resumir as informações do texto.

4. Diagnóstico - 1 ou 2 parágrafos breves.

Reunir conjunto de aspectos que permitem fazer o diagnóstico. Pode ser texto corrido ou

complementado por tabela, quadro ou fluxograma. O diagnóstico diferencial com outras condições pode ser incluído, quando relevante.

5. Investigação Laboratorial.

Este é o principal item do capítulo.

Além do texto, estimula-se a inclusão de tabelas e/ou quadros e/ou figuras e/ou fluxogramas.

Deve contemplar a descrição dos exames laboratoriais importantes para investigação da doença ou distúrbio em questão.

Se houver exames de imagem ou histopatológicos importantes, assim como análise molecular, inclusive genética, esses podem constituir outro item.

Deve incluir exames diagnósticos, exames utilizados para seguimento e para avaliação prognóstica da doença.

Exames especiais, biomarcadores de uso recente e novos métodos diagnósticos devem ser mencionados, especificando-se que não são de uso rotineiro no momento.

6. Resumo - da proposta de investigação laboratorial - 1 quadro ou 1 fluxograma, sem texto.

Este item não pode faltar.

7. Referências Bibliográficas

A proposta é a utilização de referências bibliográficas e não de bibliografia consultada. As referências devem ser incluídas ao longo do texto em ordem de aparecimento com números arábicos sobrescritos.

Devem ser incluídas preferencialmente até 20 referências bibliográficas, no estilo Vancouver, priorizando as mais atuais.

A seguir, encontram-se exemplos de referências utilizando o estilo Vancouver adaptado:

ARTIGOS:

1. Fairley KF, Birch DF. Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int.* 1982; 21: 105-8.
2. Lai FM, Szeto CC, Choi PC. Primary IgA nephropathy with low histologic grade and disease progression: is then "point of no return". *Am J Kidney Dis.* 2002; 39(2): 401-6.

OBS.: - Artigo com mais de seis autores, reduzir para três autores e acrescentar - e cols.

3. Hallal AH, Amortegui JD, Jeroukhimov IM [excluir = não citar ~~Casillas J; Schulman CI; Manning RJ;~~] e cols. Magnetic resonance cholangiopancreatography accurately detects common bile duct stones in resolving gallstone pancreatitis. *J Am Coll Surg.* 2005; 200(6): 869-75.

LIVROS:

1. O'Campo P, Dunn JR. Rethinking Social Epidemiology: Towards a Science of Change. Dordrecht, Springer, 2012.
2. Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology. 4th ed. St. Louis, Mosby, 2009.

CAPÍTULOS DE LIVROS:

1. Blaxter PS, Farnsworth TP. Social health and class inequalities. In Carter C, Peel JR. Equalities and Inequalities in Health. 2nd ed. London, Academic Press, 1976.

REVISTAS ELETRÔNICAS com e sem DOI:

1. Stockhausen L, Turale S. An explorative study of Australian nursing scholars and contemporary scholarship. J Nurs Scholarsh [Internet]. 2011 Mar [cited 2013 Feb 19]; 43(1): 89-96. Available from: <http://search.proquest.com.ezproxy.lib.monash.edu.au/docview/858241255?accountid=12528>
2. Kanneganti P, Harris JD, Brophy RH, Carey JL, Lattermann C, Flanigan DC. The effect of smoking on ligament and cartilage surgery in the knee: a systematic review. Am J Sports Med [Internet]. 2012 Dec [cited 2013 Feb 19]; 40(12): 2872-8. Available from: <http://ajs.sagepub.com/content/40/12/2872> DOI: 10.1177/0363546512458223

7/0363546512458223

Gianna Mastroianni Kirsztajn

Organizadora

E-mail: dra.gianna@gmail.com

c) Apresentação oral do trabalho “Recidiva em síndrome hemolítico urêmica atípica após descontinuidade não planejada da terapia com eculizumabe: resultados parciais da escassez da droga no Brasil” no XX congresso paulista de nefrologia em Atibaia - SP. (2019)



**CONGRESSO PAULISTA DE
XX NEFROLOGIA**
ABRANGER E AVANÇAR
25-28 SET 2019
BOURBON ATIBAIA CONVENTION CENTER
ATIBAIA, SP

CERTIFICAMOS QUE

O trabalho: Recidiva em Síndrome Hemolítico Urêmica Atípica após descontinuidade não planejada da terapia com eculizumabe: resultados parciais da escassez da droga no Brasil

foi apresentado no **XX CONGRESSO PAULISTA DE NEFROLOGIA**, realizado no Bourbon Atibaia Convention Center, Atibaia - SP, de 25 a 28 de setembro de 2019, na qualidade de **Trabalho Científico**.

Autores: Miguel Ernandes-Neto, Lucas Moares Soler, Halita Vieira Gallindo Vasconcelos, Nga Si Hong, Ariane Moyses Bravin, Julio Cesar Andriotti Borges, Rodrigo Costa Gonçalves, Rodrigo Brum von Krieger, Raquel Martins Quinino, Viviane Brandão Bandeira de Mello Santana, Maria Izabel de Holanda, Lillian Monteiro Pereira Palma, Maria Helena Vaisbich, Luis Gustavo Modelli de Andrade

Instituição: Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP - Sao Paulo - Brasil

Atibaia, 28 de setembro de 2019


Profª Dra. Maria Almerinda Ribeiro Alves
Presidente do XX Congresso Paulista de Nefrologia


Prof. Dr. Lúcio Requião-Moura
Coordenador da Comissão Científica


Prof. Dr. Rodrigo Bueno
Tesoureiro

d) Publicação de artigo original “histopathological features of thrombotic microangiopathies in renal biopsies” na revista Journal of Nephropathology (2019)

www.nephropathol.com

DOI: 10.15171/jnp.2019.27

J Nephropathol. 2019;8(3):e27

Journal of Nephropathology



Histopathological features of thrombotic microangiopathies in renal biopsies

Miguel Ernandes Neto^{1,2*}, Lucas de Moraes Soler¹, Halita Vieira Gallindo Vasconcelos¹, Daniela Cristina dos Santos³, Rosa Marlene Viero³, Luís Gustavo Modelli de Andrade¹

¹Department of Internal Medicine, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

²Hospital BP – a Beneficência Portuguesa de São Paulo, São Paulo, São Paulo State, Brazil

³Department of Pathology, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Article type:
Original Article

Article history:
Received: 7 April 2019
Accepted: 20 June 2019
Published online: 12 July 2019

Keywords:
Thrombotic microangiopathy
Hemolytic uremic syndrome
Microthrombi
Endothelium
Shiga toxin

ABSTRACT

Background: Thrombotic microangiopathy (TMA) is a morphologic lesion characterized by thrombi occluding microvasculature related to endothelial injury.

Objectives: This study aimed to assess the association between histopathological findings and etiology of TMA.

Patients and Methods: This cross-sectional study comprised a sample of 34 patients who underwent renal biopsy and received an initial TMA diagnoses resulting in 29 definitive TMA cases. We evaluated the TMA features and clinical histopathological correlation.

Results: The most frequent etiologies were atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) (n= 10; 34.5%), hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC-HUS) (n=6; 24.1%) and secondary causes of TMA (n= 12; 41.4%). We found the following histological features: patients with aHUS had thrombi in 60% of biopsies, membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN)-like pattern in 20% and ischemia in 20%; patients with STEC-HUS had thrombi (14.3%), MPGN-like pattern (14.3%), endothelial swelling (14.3%) and ischemia (57.1%); patients with secondary etiologies had thrombi (58.3%), endothelial swelling (16.7%), ischemia (16.7%) and MPGN-like pattern (8.3%).

Conclusions: The distribution of classic TMA findings was not related to etiology in spite of microthrombi having been found mostly in aHUS and secondary etiologies, whereas ischemia was found mainly in STEC-HUS. We did not find a histopathological pattern to each etiology of TMA.

Implication for health policy/practice/research/medical education:

In a cross-sectional study on 34 patients with thrombotic microangiopathy (TMA) in renal biopsy, we found the distribution of classic TMA findings was not related to etiology in spite of microthrombi having been found mostly in atypical hemolytic uremic syndrome and secondary etiologies, whereas ischemia was found mainly in hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

Please cite this paper as: Ernandes Neto M, Soler LM, Gallindo Vasconcelos HV, dos Santos DC, Viero RM, Modelli de Andrade LG. Histopathological features of thrombotic microangiopathies in renal biopsies. J Nephropathol. 2019;8(3):e22. DOI: 10.15171/jnp.2019.22.

1. Background

Thrombotic microangiopathy (TMA) is a histopathological entity characterized by thrombi occluding microvasculature related to endothelial injury. Clinical and laboratory features associated with TMA are thrombocytopenia, microangiopathic hemolytic anemia and organ damage, usually kidneys and brain (1).

Many causes of endothelial injury lead to TMA. Primary TMAs consist of diseases whose endothelial damage is involved in its own pathogenic mechanism. Atypical

hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a dysregulation of the complement system due to a lack of complement inhibitory factors leading to hyperactivity of alternative pathway. Thrombotic thrombocytopenic purpura is the result of a severe deficiency of ADAMTS13 (A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif, member 13), a metalloprotease enzyme that cleaves von Willebrand factor (vWF) in multimers. In Hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC-HUS) and hemolytic uremic

*Corresponding author: Miguel Ernandes Neto,
Email: m_ernandes@yahoo.com.br

syndrome associated with *Streptococcus pneumoniae* infection (pneumococcal HUS) the endothelial injury occurs by toxins (Shiga toxin made by enterobacteria and neuraminidase by invasive pneumococci infections, respectively) (2,3).

Among secondary etiologies are systemic lupus erythematosus (SLE), severe hypertension or malignant hypertension (MH), HIV-associated TMA, pregnancy-associated TMA (HELLP syndrome), disseminated intravascular coagulation (DIC), antibody-mediated rejection (AMR) in kidney transplant, malignancy-associated TMA and drug-mediated TMA, including antineoplastic agents (e.g. gemcitabine), immunosuppressive drugs (e.g. calcineurin inhibitors – CNIs) and antiplatelet therapy (e.g. clopidogrel and ticlopidine) (2,4).

Kidneys are commonly affected by TMA and their histopathological findings in light microscopy (LM) can be categorized as: 1– Glomerular changes: the microvasculature can be characterized by fibrinoid necrosis, fibrin and platelet thrombi, often with nuclear debris but no significant inflammation. Fragmented red blood cells (RBCs) are also commonly seen entrapped in thrombi, especially in acute phases. In addition, microscopic findings also include endothelial swelling, mesangiolytic and apparent thickening of capillary wall. Chronic changes such as glomerular basement membrane (GBM) remodeling with double contours and mesangial expansion may result in a membranoproliferative glomerulonephritis-like pattern (MPGN-like pattern); 2– Vascular changes: when involved, arterioles and arteries usually show thrombosis. They may also show necrosis of the vessel wall with intimal swelling, mucoid change and intimal proliferation. Those changes may lead to narrowed lumens and concentric lamination of intimal fibrosis causing “onion skin” appearance; 3–Tubule-interstitial changes: acute tubular necrosis is a frequent finding as a result of ischemic changes. Cortical necrosis may occur due to a severe acute ischemia after obstruction of microcirculation (2,5-8).

Regardless of the underlying etiology, all morphologic features are very similar. Therefore, renal biopsy rarely helps to establish etiological or prognostic information. Even so, the literature remains unclear although authors suggest pathological differences distinguishing causes of TMA. Some authors suggest some histopathological differences especially in secondary causes (2,5,7). A previous study suggests difference between histopathological TMA findings of STEC-HUS and aHUS (9).

2. Objectives

This study aimed to assess the association between histopathological findings and etiology after pathological

analysis of kidney biopsy specimens.

3. Patients and Methods

3.1. Patients and study design

Data were collected from the medical records of all 3580 kidney biopsies performed (January 2000 to December 2017). This cross-sectional study included a sample of 34 (0.9%) patients who underwent renal biopsy and received a TMA report at the University Hospital of Botucatu Medical School, São Paulo, Brazil.

The clinical data systematically recorded were age, gender, TMA after kidney transplant and pregnancy-associated TMA. Two nephrologists conducted chart review in search of TMA etiological diagnoses and organized them in three groups: aHUS, STEC-HUS, secondary causes (SLE, AMR, MH, CNI and DIC).

We established as inclusion criteria the presence of histopathological TMA features and compatible clinical characteristics. Common clinical findings were thrombocytopenia, non-immune microangiopathic hemolytic anemia (decreased hemoglobin, elevated serum levels of lactate dehydrogenase, schistocytes in blood film and low serum haptoglobin, plus negative Coombs test) and organ injury (acute kidney injury) (3,6).

3.2. Renal histopathology

Two independent nephropathologists performed the analyses of all specimens. By LM, the following stains were used: hematoxylin and eosin, periodic acid-Schiff, Jones silver and Masson's trichrome. In immunofluorescence microscopy, stains used were IgG, IgA, IgM, C3, C1q and fibrinogen. None of those cases was evaluated by electron microscopy (EM).

The microscopic findings were divided into four groups: thrombi (arterial/arteriolar thrombi or within glomerular capillary), endothelial swelling, ischemia (cortical necrosis or acute tubular necrosis) and MPGN-like pattern (both criteria were considered: mesangial interposition and double contour appearance of GBM). Figure 1 shows some photographic examples of histopathological findings.

Each pathologist documented the absence or presence of each group of findings according to the histopathological criteria. We considered only TMA cases with the consensus between both pathologists.

3.3. Ethical approval

The study protocol was approved by the Ethics Committee of Botucatu Medical School, São Paulo, Brazil (Approval ID: 3.380.716). The current study was performed according to the tenets of the Declaration of Helsinki.

3.4. Statistical analysis

Results were expressed as numerical values and

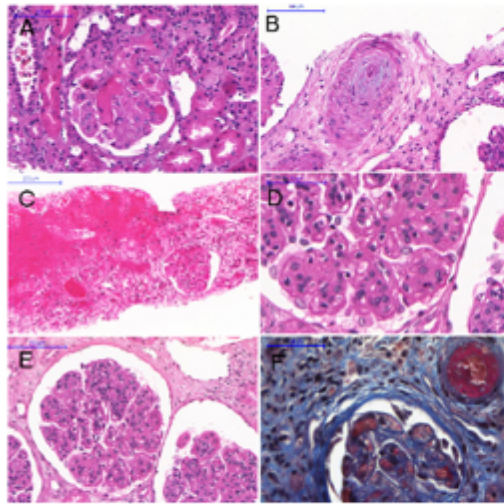


Figure 1. Histopathological features in light microscopy. (A) thrombi in afferent arteriole and within glomerular capillary (Hematoxylin and eosin, x200); (B) thrombi in arteriole and within glomerular capillary (Masson's trichrome, x400); (C) proliferative endarteritis (Hematoxylin and eosin, x200); (D) necrosis and bleeding of renal parenchyma and thrombi in adjacent glomeruli (Hematoxylin and eosin, x100); (E) Reduplication of glomerular basement membrane (Hematoxylin and eosin, x400); (F) MPGN-like pattern (Hematoxylin and eosin, x200).

percentages for categorical variables. Continuous variables were expressed as mean and standard deviations (SD). Comparisons were based on Pearson chi-square test for categorical data and Mann–Whitney U test for non-Gaussian-distributed continuous parameters. All tests were adjusted by Bonferroni correction. $P < 0.05$ was regarded as statistically significant. All statistical analysis was performed with the use of software SPSS-25.0 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp).

4. Results

4.1. Patients

We excluded 4 patients for not finding any clinical

evidence of TMA or possible associated etiology after a chart review, even at a different time than that of biopsy. One patient was excluded for finding neither clinical nor histopathological evidence of TMA in biopsy. Hence, we considered those 5 cases as doubtful diagnosis.

Thus, this study included 29 biopsy-confirmed TMA patients (18 native kidney biopsies and 11 renal graft biopsies). Among them, 10 (34.5%) had aHUS as etiological cause, 6 (24.1%) STEC-HUS and 12 (41.4%) secondary causes of TMA. We found the following secondary causes: 5 (17.2%) patients with AMR, 3 (10.3%) MH, 2 (6.9%) SLE, 1 (3.4%) DIC and 1 (3.4%) CNI. Table 1 shows clinical and histopathological characteristics according to etiological diagnosis.

In relation to baseline characteristics, aHUS patients were predominantly female (60%) and had a mean current age of 33 years (SD=10). Half of them received aHUS diagnosis after kidney transplant. STEC-HUS patients were mostly male (85.7%) and on average 2 years old (SD= 1). Patients with secondary etiologies were mostly female (75%) and on average 38 years old (SD= 13). Half of them (50%) received diagnosis after kidney transplant (AMR and CNI).

4.2. Findings

When evaluating histological findings, aHUS patients had thrombi in 60% of biopsies, MPGN-like pattern in 20% and ischemia in 20%. STEC-HUS patients had thrombi (14.3%), MPGN-like pattern (14.3%), endothelial swelling (14.3%) and ischemia (57.1%). Among patients with secondary etiologies, we found thrombi (58.3%), endothelial swelling (16.7%), ischemia (16.7%) and MPGN-like pattern (8.3%). All features are shown in Figure 2.

A cluster of all histopathological features is shown in Table 2, organized by thrombi location (glomerular, arterial or both) and thrombi associated with MPGN-like pattern. There was not a clear distribution of findings according to etiology.

5. Discussion

In this paper, we evaluated 29 kidney biopsies in order

Table 1. Clinical and histopathological characteristics according to etiological diagnosis

	aHUS (n=10)	STEC-HUS (n=7)	Secondary etiology (n=12)	P
Clinical findings				
Female sex (%)	6 (60)	1 (14.3)	9 (75)	0.03
Age (y), mean (SD)	33 (10)	2 (1)	38 (13)	0.04
After kidney transplantation (%)	5 (50)	0 (0)	6 (50)	0.04
After pregnancy (%)	2 (20)	0 (0)	2 (16.7)	0.46

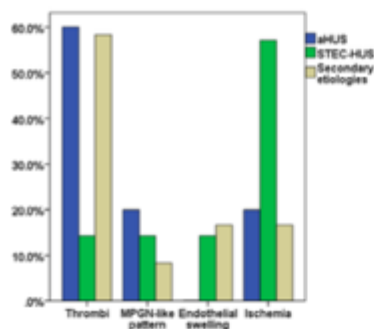


Figure 2. Histopathological features distributed by etiology.

to achieve a histological pattern of TMA. Although the TMA was characterized by thrombi in microvasculature due to endothelial injury, other findings may be found in TMA biopsies. A spectrum of histological features allows us to sort in acute or chronic, even so it is not possible to define an etiology exclusively by the histology. Another challenge in TMA is the discordance between timing of clinical and pathological manifestations (5,8).

To date, the pathological mechanism in TMA that leads to preferably endothelial cell damage in kidneys is still unknown. It is known that the glomerular endothelium cell health depends on vascular endothelial growth factor (VEGF), without which intense angiogenesis occurs. In TMA, regardless the cause, there is an endothelial damage with dysregulation of coagulation, inflammation and vascular tone control (10,11).

In an acute phase of TMA progression, active glomerular lesions may be seen as glomerular thrombi, endothelial swelling or denudation, fragmented red blood cells, subendothelial flocculent material by EM, mesangiolytic and microaneurysm. In arterioles, active lesions may be thrombi, endothelial swelling or denudation, intramural fibrin, fragmented red blood cells, intimal swelling and/or myocyte necrosis. Finally in arteries, they may be thrombi, myxoid intimal swelling, intramural fibrin and fragmented red blood cells (8).

Both LM and EM may show chronic lesions. Double contours of peripheral capillary walls and variable mesangial interposition are seen by LM, whereas new subendothelial basement membrane and widening of the subendothelial zone are seen by EM. Those glomerular changes may also be called MPGN-like pattern. In arterioles, we may find hyaline deposits while, in arteries, fibrous intimal thickening with concentric lamination ("onion skin" appearance) (8).

Probably, chronic TMA patients present mild clinical manifestations which make it difficult to identify clinical correlation with all MPGN-like pattern biopsies. Our study showed MPGN-like pattern in 20% of aHUS patients, being even less in other etiologies. A temporal mismatch between clinical and morphologic manifestations makes etiology definition difficult in patients with MPGN-like pattern, especially in secondary TMA. STEC-HUS is more easily diagnosed, mainly related to diarrhea, accordingly chronic lesions were less common (14.3% of STEC-HUS patients).

Regarding etiologies, we found 34.5% of aHUS although it is an ultra-rare disease (12) (the annual incidence is about 0.5 to 2 per million adults and 3.3 per million children or adolescents) (13). A possible explanation for this finding is that this study was conducted in a transplant center located in a high complexity hospital, where there is also a maternity unit. aHUS can be revealed in both situations (14,15). Moreover, the presence of micro-thrombi in 60% of aHUS patients suggests that we performed early biopsy in this diagnostic suspicion.

According to the literature, severe STEC-HUS cases are related to ischemic lesions(13). An experimental study demonstrated different glomerular features between type of Shiga toxin (stx). Stx type 1 was related to endothelial lesion, while stx type 2 to mesangiolytic (16). Besides suggesting biopsy indication occurs more often in longstanding acute kidney injury, the type of toxin might be responsible for ischemia in 57.1% of STEC-HUS biopsies.

In a renal transplant scenario, many TMA etiologies may represent a diagnosis challenge. There are three

Table 2. Histopathological features of thrombotic microangiopathy in renal biopsies

	aHUS (n=10)	STEC-HUS (n=7)	Secondary etiology (n=12)	P
Histopathological findings				
Only glomerular thrombi (%)	3 (30)	0 (0)	1 (8.3)	
Only arterial thrombi (%)	1 (10)	1 (14.3)	2 (16.7)	
Glomerular and arterial thrombi (%)	2 (20)	0 (0)	4 (33.3)	0.42
Membranoproliferative-like pattern (%)	1 (10)	1 (14.3)	1 (8.3)	
MPGN-like pattern + thrombi (%)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	
Endothelial swelling (%)	0 (0)	1 (14.3)	2 (16.7)	
Ischemia (%)	2 (20)	4 (57.1)	2 (16.7)	

situations: recurrence, *de novo* TMA and associated to antibody mediated rejection (AMR) (11,17). One Brazilian cohort study with 1549 patients found 1.1% of *de novo* TMA after kidney transplantation, excluded AMR and recurrent HUS. CNIs withdrawal was the first step in 59% of patients, followed by plasma exchange or plasma infusion (35%). Graft survival after *de novo* TMA was 43% in 4 years, significantly less than those who did not have TMA after kidney transplant (85.6%)(18). The early CNI withdrawal in *de novo* TMA patients probably decreased biopsies indications after kidney transplant in our hospital, which performs on average 120 kidney transplants a year (19).

In acute phase of AMR, circulating donor-specific antibodies (DSA) can lead to a lytic endothelial cells injury in kidney graft microvasculature associated to complement activation, which is characterized by endothelial swelling, cell necrosis, classic TMA and neutrophilic infiltration. Chronically, AMR can be expressed by sub-lytic endothelial cells injury whose histological findings can be MPGN-like pattern (proliferative-reparative changes named transplant glomerulopathy), pro-coagulant changes as micro-thrombi or inflammatory infiltration manifested as glomerulitis and capillaritis. Peritubular capillary C4d staining helps us to diagnose AMR and it was positive in 55% of *de novo* TMA biopsies (20,21). In C4d-negative AMR cases, increased expression of validated gene transcripts in the biopsy tissue could be an indicative of antibody interaction with vascular endothelium (22). The involvement of the entire vascular tree and endarteritis are features of AMR(17). The group of secondary TMA had 5 patients (41.6%) with AMR, all of them C4d-positive. The small number of cases precluded a separate analysis.

Pregnancy is responsible for unmasking 20% of aHUS among women, mostly in postpartum (14). A differential diagnosis of TMA related to pregnancy is known as HELLP syndrome, in which renal microvasculature and hepatic sinusoids damage occur due to preeclampsia. Preeclampsia provides an unbalance between proangiogenic factors (VEGF) and antiangiogenic factors (sFlt1 – tyrosine kinase Fms-like soluble type 1) (23). In HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet levels) syndrome, ordinary renal lesions (glomerular endotheliosis and ATN) resolve after delivery (24,25).

Out of all possible secondary TMA causes, we found MH, DIC and SLE. A dysregulation of complement and coagulation systems can give rise to DIC after an endothelial damage, which is a cause of TMA due to sepsis (26).

According to the literature, TMA is related to 15% of MH biopsies since there is a predominant involvement of arterioles and interlobular artery with intimal proliferation

leading to narrowed lumens (“onion skin” lesions) (5,27).

TMA in SLE patients may be associated with several possibilities; overlapping Scleroderma, aHUS, MH, antiphospholipid syndrome and TTP, in addition to endothelial involvement of SLE activation. TMA was found in 24% of biopsies with lupus nephritis, mostly in class IV. Endocapillary hypercellularity was more prevalent in lupus patients with TMA than those without TMA. A previous study found that TMA in lupus nephritis biopsies was an independent risk factor for renal outcome (28).

6. Conclusions

Although the distribution of classic TMA findings was not related to etiology, however, micro-thrombi were found mostly in aHUS and secondary etiologies. Furthermore, ischemia was found mainly in STEC-HUS. Evaluation of combined features did not help us demonstrating a histopathological pattern in kidney biopsy-proven TMA patients.

Limitations of the study

We acknowledge that this study has limitations. It has a small sample of biopsies and many possible etiologies. Probably just severe TMA cases or those who did not respond to the initial treatment had kidney biopsy indication. We needed to believe in different medical evaluations by doing chart review. Furthermore, the grouping of secondary TMA causes precludes the understanding of each single entity details.

Acknowledgments

The authors thank for proofreading the manuscript: Dr. Daniel Lucas da Conceição Costa MD, PhD from Hospital das Clínicas HCFMUSP (Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil), Danilo Euclides Fernandes MSc from Department of Medicine, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil and Ms. Simone Manetti from Seven Language School, São Paulo, SP, Brazil.

Authors' contribution

MEN was responsible for writing this manuscript and literature review. LMS and HVGW were responsible for chart review. DCS and RMV were responsible for histopathological analysis. LGMA was responsible for study conception and data analysis. All authors provided intellectual content for this study.

Conflicts of interests

MEN and LGMA, reported having provided teaching assistance to Alexion Pharmaceuticals. Other authors have no conflicts of interest to declare. This manuscript did not receive grants.

Ethical considerations

Ethical issues (including plagiarism, double publication) have been completely observed by the authors.

Funding/ Support

This work was supported by University Hospital of Botucatu Medical School.

References

- Verhave JC, Wetzels JFM, van de Kar NCAJ. Novel aspects of atypical haemolytic uraemic syndrome and the role of eculizumab. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(suppl 4):iv131–41. doi: 10.1093/ndt/gfu235.
- Brocklebank V, Wood KM, Kavanagh D. Thrombotic microangiopathy and the kidney. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(2):300–317. doi: 10.2215/CJN.00620117.
- Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med*. 2002;347(8):589–600. doi:10.1056/NEJMra020528.
- García G, Atallah JP. Antineoplastic agents and thrombotic microangiopathy. *J Oncol Pharm Pract*. 2017;23(2):135–142. doi: 10.1177/1078155216628324.
- Lusco MA, Fogo AB, Najafian B, Alpers CE. *AJKD Atlas of Renal Pathology: Thrombotic Microangiopathy*. *Am J Kidney Dis*. 2016;68(6):e33–4.
- Barbour T, Johnson S, Cohn S, Hughes P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(7):2673–85. doi: 10.1093/ndt/gfs279.
- Benz K, Amann K. Thrombotic microangiopathy: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010;19(3):242–7. doi: 10.1097/MNH.0b013e3283378f25.
- Goodship THJ, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2017;91(3):539–551. doi: 10.1016/j.kint.2016.10.005.
- Taylor CM, Chua C, Howie AJ, Risdon RA. Clinicopathological findings in diarrhoea-negative haemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2004;19(4):419–25.
- Goldberg RJ, Nakagawa T, Johnson RJ, Thurman JM. The Role of endothelial cell injury in thrombotic microangiopathy. *Am J Kidney Dis*. 2010;56(6):1168–74.
- Vazquez Martul E. Microangiopatía trombótica/síndrome hemolítico urémico. Actualización de sus características histopatológicas. *Rev Esp Patol*. 2018;51(3):170–7.
- Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2009;361(17):1676–87.
- Noris M, Remuzzi G. Glomerular diseases dependent on complement activation, including atypical hemolytic uremic syndrome, membranoproliferative glomerulonephritis, and C3 glomerulopathy: core curriculum 2015. *Am J Kidney Dis*. 2015;66(2):359–75.
- Huerta A, Arjona E, Portoles J, Lopez-Sanchez P, Rabasco C, Espinosa M, et al. A retrospective study of pregnancy-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*. 2018;93(2):450–459. doi: 10.1016/j.kint.2017.06.022.
- Bouatou Y, Bacchi VF, Villard J, Moll S, Martin P-Y, Hadaya K. Atypical hemolytic uremic syndrome recurrence after renal transplantation: C3-glomerulonephritis as an initial presentation. *Transplant Direct*. 2015;1(2):1–4.
- Stearns-Kurosawa DJ, Oh S-Y, Cherla RP, Lee M-S, Tesh VL, Papin J, et al. Distinct renal pathology and a chemotactic phenotype after enterohemorrhagic *Escherichia coli* Shiga toxins in non-human primate models of hemolytic uremic syndrome. *Am J Pathol*. 2013;182(4):1227–38.
- Mundra VRR, Mannon RB. Thrombotic microangiopathy in a transplant recipient. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(8):1251–1253. doi: 10.2215/CJN.00020118.
- Caires RA, Marques IDB, Repizo LP, Sato VAH, Carmo LPE, Machado DJB, et al. De novo thrombotic microangiopathy after kidney transplantation: clinical features, treatment, and long-term patient and graft survival. *Transplant Proc*. 2012;44(8):2388–90.
- de Andrade LGM, Contti MM, Nga HS, Bravin AM, Takase HM, Viero RM, et al. Long-term outcomes of the Atypical Hemolytic Uremic Syndrome after kidney transplantation treated with eculizumab as first choice. *PLOS One*. 2017;12(11):e0188155.
- Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Endothelial injury in renal antibody-mediated allograft rejection: a schematic view based on pathogenesis. *Transplant J*. 2013;95(9):1073–83.
- Satoskar AA, Pelletier R, Adams P, Nadasy GM, Brodsky S, Pesavento T, et al. De novo thrombotic microangiopathy in renal allograft biopsies-role of antibody-mediated rejection: de novo thrombotic microangiopathy in renal allografts. *Am J Transplant*. 2010;10(8):1804–11.
- Montgomery RA, Loupy A, Segev DL. Antibody-mediated rejection: new approaches in prevention and management. *Am J Transplant*. 2018;18:3–17. doi: 10.1111/ajt.14584.
- Craici IM, Wagner SJ, Weissgerber TL, Grande JB, Garovic VD. Advances in the pathophysiology of pre-eclampsia and related podocyte injury. *Kidney Int*. 2014;86(2):275–85. doi: 10.1038/ki.2014.17.
- Fakhouri F. Pregnancy-related thrombotic microangiopathies: Clues from complement biology. *Transfus Apher Sci*. 2016;54(2):199–202.
- Fakhouri F, Vercel C, Frémeaux-Bacchi V. Obstetric nephrology: AKI and thrombotic microangiopathies in pregnancy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(12):2100–6. doi: 10.2215/CJN.13121211.
- Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ. Complement, thrombotic microangiopathy and disseminated intravascular coagulation. *J Intensive Care*. 2014;2(1):65. doi: 10.1186/s40560-014-0061-4.
- Rubin S, Cremer A, Boulestreau R, Rigotherier C, Kuntz S, Gosse P. Malignant hypertension: diagnosis, treatment and prognosis with experience from the Bordeaux cohort. *J Hypertens*. 2019;37(2):316–324. doi:10.1097/HJH.0000000000001913.
- Song D, Wu L, Wang F, Yang X, Zhu D, Chen M, et al. The spectrum of renal thrombotic microangiopathy in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(1):R12. doi: 10.1186/ar4142.

- e) Publicação de resumo do trabalho “Atypical hemolytic uremic syndrome relapse after unplanned eculizumab therapy discontinuation: results of a brazilian shortage” apresentado no congresso ERA-EDTA realizado em Budapeste – Hungria em suplemento da revista *Nephrology Dialysis Transplantation*. (2019)

SPO08 ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME RELAPSE AFTER UNPLANNED ECULIZUMAB THERAPY DISCONTINUATION: RESULTS OF A BRAZILIAN SHORTAGE

MIGUEL ERNANDES NETO¹, Lucas De Moraes Soler², Halita Vieira Galindo Vasconcelos³, Hong Si Nge⁴, Ariane Moyses Bravin⁵, Julio Cesar Andreotti Borges⁶, Rodrigo Costa Gonçalves⁷, Krigger, Rodrigo Brum Voni⁸, Raquel Martins Quirino⁹, Viviane Brandão Bandeira De Mello Sartana⁹, Holanda, Maria Izabel De⁹, Lilian Monteiro Pereira Palma⁹, Maria Helena Vaisbich⁹, Luis Gustavo Modelli Andrade⁹

¹Fresenius Medical Care, São Paulo, Brazil, ²Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB - UNESP), Botucatu, State of São Paulo, Brazil, Brazil, ³Hospital de Urogênias Governador Otávio Lage de Siqueira (HUGOL), Goiânia, Brazil, ⁴Hospital Universitário Onofre Lopes - UFRN, Natal, Brazil, ⁵Instituto Hospital de Base, Brasília, Brazil, ⁶Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brazil, ⁷Clinica do Rim e Hipertensão de Campinas, Campinas, Brazil and ⁸University of São Paulo, São Paulo, Brazil

INTRODUCTION: Introduction: Discontinuing eculizumab therapy in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome (aHUS) has been described based on clinical evaluation, genetic study and time of drug use. Our study shows outcomes after unplanned therapy discontinuation due to a Brazilian shortage.

METHODS: Methods: Emails were sent to 775 dialysis centers plus other 25 clinical nephrologists throughout Brazil. We collected data from 22 aHUS patients who had eculizumab therapy interrupted for at least one month, between January 2017 and December 2018. One patient was excluded for having mutation in the gene encoding for diacylglycerol kinase-epsilon (DGKE). Primary endpoints were hemolysis (increased serum lactate dehydrogenase or undetectable serum haptoglobin), acute kidney injury (AKI) or start of dialysis, and thrombotic microangiopathy (TMA) found in kidney biopsy.

RESULTS: Results: We analyzed 22 episodes of exposure to risk among 21 patients included in this study. In relation to baseline characteristics, we found 15 female patients (68.2%), mean current age of 31.5 years and standard deviations (SD) ± 11.8, mean time without drug use was 147.8 days and SD ± 102.3, 4 patients (18.2%) were in dialysis and 9 (40.9%) had functioning kidney transplant. Mutations were found in gene encoding for the following proteins: CFH 9 (40.9%), C3 3 (13.6%), CFHR1 - CFHR3 1 (4.5%), CFI 1 (4.5%), undetermined 4 (18.1%). In 4 (18.1%) episodes, there were not genetic investigation. After discontinuation, 10 episodes (45.4%) culminated in any primary endpoint. The percentage of aHUS relapse in 30, 90 and 180 days were respectively 0%, 28.6% e 51.6%.

CONCLUSIONS: Conclusion: Our study showed 45.4% of aHUS relapse and a cumulative incidence of 51.6% in 180 days. This is a high incidence of events in unplanned discontinuation of eculizumab therapy in aHUS patients.

- f) Apresentação do trabalho “Atypical hemolytic uremic syndrome relapse after unplanned eculizumab therapy discontinuation: results of a brazilian shortage”, no formato de pôster, no congresso ERA-EDTA realizado em Budapeste – Hungria. (2019)

