

Artículo original

# SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO ATÍPICO

Dra. Analía Sánchez-Luceros,<sup>a</sup> Dra. Celia Dos Santos,<sup>b</sup> Dra Andrea Exeni,<sup>c</sup>  
Dra. Adriana Santiago<sup>d</sup> y Dr. Ramón Exeni<sup>e</sup>

## INTRODUCCIÓN

Dr. Ramón Exeni

Síndrome urémico hemolítico es una entidad caracterizada por anemia hemolítica microangiopática no inmune, trombocitopenia, afectación renal y manifestaciones en diversos órganos como páncreas, corazón.

Etiológicamente se reconoce el llamado síndrome urémico hemolítico típico (SUH), causado por infecciones por bacterias productoras de shigatoxina (STEC) cepas de *E. coli* y *Shigella dysenteriae* y un mismo cuadro clínico con distintas repercusiones, lo provocan alteraciones genéticas por disregulación de la vía alterna del complemento y otras anomalías como la deficiencia de ciancobalamina o la diacylglycerolquinasa (DGKE) y constituyen el SUH atípico (SUHa).

La terminología y la inclusión de casos en la clasificación de SUH atípico se tornó muy confusa. Recientemente se propone una nueva terminología denominando a estos diferentes tipos como

SUHa dependiente del complemento, SUHa por déficit de DGKE, SUHa por defecto de cblC. Resulta atractiva esta idea porque se refiere a los mecanismos patogénicos que la provocan

## EPIDEMIOLOGÍA

Es una de las enfermedades considerada ultrarraras. En USA se refieren 1 a 2 pacientes por millón de habitantes. En Europa, en un estudio multicéntrico internacional, se informa de una incidencia de 0,11 casos/millón de habitantes. En cuanto a la prevalencia, la European Medicine Agency, refiere 3,3 casos por millón de habitantes, en menores de 18 años.

## CLÍNICA

Puede comenzar en los primeros meses de vida e iniciarse a cualquier edad.

Puede ser agudo como el SUH típico o en algunos casos ser de presentación lenta con anemia subclínica, trombocitopenia fluctuante y función renal conservada, niveles altos de lactodehidrogenasa, niveles indetectables de haptoglobina y la **presencia** de esquistocitos que son la evidencia de la hemólisis intravascular.

Puede comenzar repentinamente con palidez brusca, mal estado general, vómitos y decaimiento.

La hipertensión arterial puede ser muy severa complicándose con encefalopatía y falla cardíaca.

Otra forma de presentación puede ser solapada, se presentan con anemia subclínica, tromboci-

a. Jefe Departamento Hemostasia y Trombosis, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina Buenos Aires.

b. Msc PhD Becaria Post Doctoral Fundacion Rene Baron, Instituto Medicina Buenos Aires.

c. Jefa Servicio de Nefrología Infantil, Hospital Universitario Austral, Pilar Buenos Aires.

d. Jefe de Dialisis y Transplante, Departamento de Nefrología, Hospital de Niños de San Justo, Buenos Aires

e. Coordinador Nefrología, Departamento de Nefrología, Hospital de Niños de San Justo, Buenos Aires.

topenia fluctuante y generalmente función renal conservada.

Un porcentaje pequeño (4 %) puede presentar una forma fulminante, con fallo multiorgánico severo con compromiso neurológico, intestinal, pancreático, hepático, todo producto de la microangiopatía trombótica (MAT).

El carácter difuso y sistémico de la MAT hace que se produzcan daño en otros órganos, presentándose alteraciones neurológicas que van desde manifestaciones leves hasta severos cuadros de hemiparesia, accidente cerebrovascular, alteraciones visuales y hemiplejía.

El infarto de miocardio se presenta en un 4 % de las pacientes, con manifestaciones de afectación cardíaca, con isquemia y alteraciones obstructivas de los vasos coronarios.

Se refieren casos de SUHa con manifestaciones dermatológicas en forma de lesiones ulcerosas y gangrenosas en las extremidades inferiores.

La afectación ocular se manifiesta como lo que se conoce como Síndrome de Purtscher. Es una vasculopatía oclusiva y hemorrágica. Se caracteriza por presentar múltiples manchas blanquecinas en la superficie de la retina y hemorragias retinianas circundando la cabeza del nervio óptico, asociadas a pérdida de la visión. Una de sus características es la de recidivar en los niños con SUH atípico, a veces como única manifestación de la enfermedad.

La enfermedad se desarrolla con las características clínicas del SUH típico, siendo muy difícil el diagnóstico diferencial entre ambos.

La evolución clínica será dominada por las medidas que se tomen desde el punto de vista terapéutico, plasma fresco, plasmaféresis, hasta llegar al uso del Eculizumab.

El fallo renal agudo puede durar varios días y un grupo de pacientes, tal como sucede en el SUH típico, no recuperan la función pasando directamente a la insuficiencia renal crónica. Esto es menos frecuente a partir del uso de Eculizumab.

## DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Ante cuadros sugerentes de SUH en neonatos y menores de 6 meses el diagnóstico más probable, una vez descartado el SUH típico, son las alteraciones del complemento y el secundario a neumococo, ya que las púrpuras trombocitopénicas trombóticas hereditaria y la deficiencia de Ciancabolamina, son excepcionales.

En los adolescentes predomina el déficit de MCP y el producido por anticuerpos anti-CHF y es la edad de aparición de la púrpura trombocitopénica trombótica adquirida.

## FISIOPATOLOGÍA

### 1. Factores genéticos del complemento relacionados al suha

*Dra. Analía Sánchez Luceros*

*Dra Celia Dos Santos*

Las microangiopatías trombóticas (MAT) representan un grupo de enfermedades que consisten en una lesión microvascular de arteriolas y capilares con engrosamiento de la pared vascular, desprendimiento y edema endotelial prominente, acumulación subendotelial de proteínas y restos celulares, fibrina y trombos ricos en plaquetas que obstruyen la luz del vaso, resultando en isquemia tisular<sup>1</sup>.

En los últimos años se ha visto un creciente número de desarrollos y metodologías dirigidas a caracterizar y diferenciar los subtipos de MAT. La clasificación de las MAT basadas en la fisiopatología de la enfermedad<sup>2</sup> y las guías de diagnóstico y tratamiento de MAT<sup>3-5</sup> son manifestaciones de los avances realizados en la comprensión de estas enfermedades.

Sin embargo, la clasificación y nomenclatura de las MAT siguen imprecisas, dado que todos los mecanismos implicados en estas patologías no han sido completamente descriptos. El SUH es una MAT caracterizada por la tríada de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y falla renal de variable severidad, que se presenta en dos formas.

Las formas típicas, un 90% de los casos, son secundarias a infección por microorganismos productores de toxina Shiga (STEC) (*Escherichia coli*, *Shigella*) y afectan en su mayoría la población pediátrica<sup>6</sup>. El 10% restante está constituido por las formas atípicas (SUHa), una enfermedad extremadamente rara que afecta tanto adultos como niños, que es causada por la desregulación de la vía alternativa del complemento que lleva a su activación<sup>7</sup>.

En la última década, la identificación de variantes genéticas en los componentes de la vía alternativa del complemento<sup>8</sup> y de auto-anticuerpos dirigidos contra el factor H<sup>9</sup> ha sido clave en el entendimiento

de los mecanismos de enfermedad, permitiendo el desarrollo de nuevas terapias y mejorar el pronóstico de los pacientes.

## 2. Características clínicas y de laboratorio para el diagnóstico del SUHa

Ante la sospecha clínica de MAT, el médico tiene a disposición algunas herramientas de laboratorio que permiten orientar el diagnóstico. Bajo el término de MAT se han agrupado dos entidades, el SUH y la Púrpura Trombótica Trombocitopénica (PTT), las cuales son, desde el punto de vista anatómo-patológico y clínico, enfermedades diferentes.

La PTT se caracteriza por hemólisis microangiopática asociada a severa deficiencia de la actividad de ADAMTS13 (acrónimo por *A Disintegrin And Metalloproteinase with a Thrombospondin type 1 motif, member 13*). En los pacientes, los multímeros extragrandes del factor von Willebrand (ULVWF), secretados por células endoteliales activadas, no son clivados por ADAMTS13. Este clivaje es esencial para evitar la excesiva adhesión y agregación de plaquetas a ULVWF en sangre circulante, que son los causantes de trombosis microvascular<sup>10</sup>.

La PTT adquirida, que representa casi el 90% de los casos de PTT en adultos, es debida al desarrollo de autoanticuerpos dirigidos a ADAMTS13. La PTT congénita resulta de mutaciones genéticas en ADAMTS13 y representa aproximadamente 5-10% de los casos. La determinación de una actividad disminuida de ADAMTS13 (<10%) en el plasma humano es actualmente el método de referencia para discriminar la PTT del SUHa.

Sin embargo, algunos de los casos descritos desafían la presunción de una adecuada separación clínica basada en síntomas y/o patrón de laboratorio, mostrando cuadros de superposición de enfermedad entre PTT y SUH. Como ejemplos de estos cuadros de superposición, en una publicación de pacientes pediátricos diagnosticados como SUHa, un subgrupo de pacientes fue identificado con severa deficiencia de actividad de ADAMTS13 compatible con el diagnóstico de PTT<sup>11</sup>.

En 2013, en una cohorte de pacientes SUHa con mutaciones de complemento se observó disminución de la actividad de ADAMTS13 con anomalías genéticas de ADAMTS13<sup>12</sup>. Una publicación reciente describe un caso de MAT aguda, con síntomas neurológicos y evidencia de PTT sin

daño renal en ausencia de deficiencia de actividad de ADAMTS13 plasmática<sup>13</sup>. Investigando la vía alternativa del complemento, los autores identificaron 2 mutaciones nuevas asociadas a SUHa que causaron la MAT después de un evento gatillo.

En 20% de las MAT, se observan manifestaciones extra-renales incluyendo complicaciones en el sistema nervioso central, el sistema cardiovascular, los pulmones, la piel, el músculo esquelético y el tracto gastrointestinal<sup>14</sup>. Diferentes grupos de trabajo propusieron algoritmos para el diagnóstico diferencial de la microangiopatía primaria (7,15-16). En presencia de las manifestaciones clínicas de trombocitopenia (<150.000 plaquetas/ $\mu$ L), de hemólisis intravascular (elevación de LDH, descenso de la hemoglobina y haptoglobina, presencia de esquistocitos) acompañadas por un daño, leve o severo, de órganos (en particular fallo renal con elevación de creatinina), se recomienda la evaluación de la actividad de ADAMTS13 y de su inhibidor anti-IgG. En el caso de observar una actividad de ADAMTS13 superior a 10%, se sospecha un SUH, y se descarta una posibilidad de SUH típico si el paciente no presenta infección por STEC.

Para evidenciar un SUHa se recomienda el screening funcional y la caracterización genética del complemento y sus reguladores, como ha sido descrito previamente en algunos algoritmos de diagnóstico<sup>17-18</sup>. La dificultad del estudio del SUHa reside en la posibilidad de que múltiples factores sean implicados en la enfermedad, sean genéticos y/o ambientales. La prevalencia fenotípica de la enfermedad es efectivamente incompleta.

Esto se evidencia en los casos familiares de SUHa, donde aproximadamente un 50% de los pacientes con una variante genética en los genes del complemento, ya descrita como asociada al SUHa, no presentan síntomas de la enfermedad<sup>19</sup>. Estos datos apoyan la hipótesis que las variantes genéticas presentes en el complemento son factores de predisposición de la enfermedad y no pueden ser considerados siempre como causa principal o única.

Numerosos estudios de casos permitieron identificar eventos gatillos asociados al SUHa. La patología puede ser secundaria a múltiples condiciones como infecciones otras que por STEC, cáncer, enfermedad autoinmune, trasplante de órganos sólidos o células progenitoras hematopoyéticas<sup>20</sup>, siendo un desafío desenmascararla en los casos asociados a

embarazo, lupus eritematoso sistémico, o crisis hipertensiva que constituyen condiciones que pueden desencadenar la activación del complemento<sup>15</sup>. La existencia de pacientes con SUHa pero sin variantes genéticas patogénicas en los genes del complemento, además de la identificación de cambios en genes como la thrombomodulina (THBD)<sup>21</sup> o DGKE<sup>22</sup> sugieren la presencia de factores genéticos adicionales implicados en la patogénesis de la enfermedad que todavía quedan por investigar.

### 3. El sistema del complemento

El sistema del complemento, parte de la inmunidad innata, es uno de los más viejos mecanismos evolutivos de defensa contra organismos infecciosos y células propias modificadas. No solo el sistema “complementa” el rol de los anticuerpos en la inmunidad adquirida, sino que también marca a los patógenos y las células necróticas para su opsonización, y proporciona una defensa temprana en ausencia de anticuerpos realizando la lisis de las células extrañas al organismo. El sistema se compone de alrededor de 30 proteínas, la mayoría de las cuales son sintetizadas por el hígado y circulan en el plasma. Estas proteínas se reparten en 3 vías: la vía clásica, la vía de las lectinas y la vía alternativa<sup>23</sup>. Cada vía inicia el proceso inmunológico con diferentes factores para inducir la liberación de anafilatoxinas. Estos fragmentos peptídicos son capaces de reclutar más células inmunológicas generando una amplificación de la respuesta inmune y la formación del complejo de ataque a membrana (MAC: *Membrane Attack Complex*) que permite la destrucción de las células indeseables<sup>24</sup>.

La iniciación de la vía alternativa del complemento no depende de complejos antígeno-anticuerpo, sino de la hidrólisis espontánea del C3 tióester en el dominio tióester TED de la proteína, para formar C3(H<sub>2</sub>O). C3(H<sub>2</sub>O) se une al factor B (CFB), exponiendo un sitio en CFB que sirve de sustrato al factor D (CFD) para formar las subunidades Ba y Bb. El fragmento Bb queda unido al C3(H<sub>2</sub>O) y forma la convertasa C3 (C3(H<sub>2</sub>O)Bb), capaz de romper el C3 libre en C3a y C3b, para formar más C3bBb en un proceso de amplificación llamado “*positive feedback loop*”. El C3b en exceso se une a la convertasa C3 para generar la convertasa C5 (C3bBbC3b), capaz de romper C5 en C5a y C5b. C5a es una anafilatoxina liberada en la circulación

sanguínea y C5b permite iniciar la vía terminal del complemento con la formación del MAC, incluyendo las proteínas C6, C7, C8, C9 (*Figura 1*). Como lo indica su nombre, el complejo se introduce en la membrana de los patógenos o de las células a eliminar generando la lisis de los mismos y algunos mecanismos pro-inflamatorios en las células resistentes a la destrucción<sup>25</sup>.

La vía alternativa del complemento se encuentra constitutivamente activada y esta activación es regulada por proteínas específicas como el *Factor H* (CFH), *Factor I* (CFI), *Complement Receptor 1* (CR1), *C4b binding protein* (C4BP), *Membrane Cofactor Protein* (MCP) o CD46, CD59 and *Decay Accelerating Factor* (DAF)<sup>26</sup>. Las proteínas reguladoras pueden actuar como aceleradoras del proceso de desacoplamiento de las convertasas, pueden promover una inactivación irreversible o una inhibición reversible por competición. Proteínas como CFH y DAF permiten el acortamiento de la vida media de las convertasas C3 y C5. CFH y los reguladores MCP y CR1 unidos a la membrana pueden actuar como cofactor de CFI, induciendo el corte de la proteína C3b para producir formas inactivas como iC3b a la superficie celular y la subunidad soluble C3f. Si bien C4BP regula más generalmente la vía clásica del complemento, algunos estudios demostraron el rol de cofactor de la proteína con CFI en la inactivación de C3b. El mecanismo de inhibición competitiva se caracteriza por la unión de reguladores de la vía con algunas proteínas para impedir sus funciones. CFH se puede unir a C3b para disminuir su unión con CFB, disminuyendo así la formación de la convertasa C3.

## 4. Factores genéticos del complemento relacionados al SUHa

### 4.1. Complemento Factor H (CFH)

CFH es una glicoproteína soluble circulante de 155 kDa. La proteína está compuesta de 20 dominios llamados proteína de control de complemento (CCP) codificados por 23 exones. Los dominios CCPs 1-4, CCP 7, and CCPs 19-20 regulan la unión al C3b.

Además, la región C-terminal (CCPs 19-20) tiene un rol importante en la unión a la superficie celular. El gen *CFH* está localizado en el brazo largo (q) del cromosoma 1 en la posición 32<sup>27</sup>. Debido al rol central que juega el factor H en la regulación del

complemento, la actividad aberrante de este factor ha tenido varias implicancias clínicas (MAT, glomerulonefritis membrano-proliferativa, degeneración macular asociada a la edad, hipertensión arterial, etc.). Es uno de los factores del complemento más importantes de los vinculados a SUHa, ya que 20 a 30% de los pacientes presentan variantes genéticas en *CFH*<sup>28,29,30</sup>.

Más de 160 variantes fueron descritas incluyendo mutaciones de sentido erróneo, sin sentido, las que corren el marco de lectura (adición/delección) o que cambian el sitio de *splicing*<sup>31</sup>. En la mayoría de los casos, las variantes son heterocigotas y se caracterizan por una penetrancia incompleta.

Las variantes genéticas pueden producir una deficiencia de la proteína CFH de manera cuantitativa (alteración de la producción o de la secreción) o cualitativa (alteración de la función). Para medir estas alteraciones, se puede determinar los niveles plasmáticos de CFH, de preferencia por ELISA para una mayor sensibilidad, y realizar el ensayo funcional basado en la prevención de la hemólisis de los eritrocitos de oveja por reguladores del complemento como el CFH<sup>32</sup>. En presencia de plasma de pacientes con una anomalía funcional del factor H, se observará lisis de los eritrocitos.

La descripción de combinaciones de variantes genéticas en *CFH*, llamadas haplotipos, en pacientes con SUHa mostró que algunas combinaciones pueden ser patogénicas y otras protectoras<sup>33-35</sup>.

El gen *CFH* presenta una fuerte homología de secuencia con los 5 genes *CFHR-1* a *CFHR-5*. Se piensa que estos homólogos se formaron por eventos de duplicaciones del gen *CFH* original dado que las proteínas *CFHR* se componen de dominios CCPs presentando entre 30 a 100% de homología con *CFH*. De la misma manera que para *CFH*, la presencia de cambios genéticos como mutaciones, deleciones, duplicaciones o recombinaciones en los genes *CFHR* puede ser relacionada al SUHa<sup>36</sup>. La fusión entre los genes *CFH* y *CFHR3*, que se traduce por la expresión de una proteína híbrida conteniendo 19 CCPs de *CFH* y 4 CCPs de *CFHR3*, resulta en una pérdida de la actividad de regulación del complemento de la proteína a la superficie celular<sup>37</sup>. La delección homocigota de los genes *CFHR1-CFHR3* es más frecuente en los pacientes con SUHa que en la población normal, especialmente en pacientes que presentan auto-anticuerpos anti-FH<sup>38</sup>.

Actualmente, no fue demostrado si la ausencia de los genes causa el desarrollo de los anticuerpos.

#### 4.2. Complemento Factor I (CFI)

El gen *CFI* localizado en el cromosoma 4 contiene 13 exones que codifican una serina proteasa de 88 kDa, principalmente producida en el hígado. CFI se compone de una cadena pesada (50 kDa) y de una cadena liviana (38 kDa) conectadas por un puente disulfuro. La cadena pesada se compone de 5 dominios proteicos: FIMAC (Factor I Membrane Attack Complex), CD5-like domain, LDLr1 y LDLr2 (Low-Density Lipoprotein receptor) y la última región con homología no conocida. La cadena liviana se compone de 5 exones codificando por el dominio serina proteasa (SP)<sup>39</sup>. La unión de la glicoproteína CFI a sus cofactores específicos permite la inactivación de C3b en iC3b para prevenir la formación excesiva de las convertasas C3 y C5. Entre 5 a 10% de los pacientes SUHa presentan una de las ≈60 variantes genéticas ya descritas en *CFI*<sup>40</sup>. La descripción de una mutación en homocigota es una excepción<sup>41</sup> dado que todas las variantes genéticas encontradas hasta ahora se observaron de forma heterocigota. Estas mutaciones afectan la expresión o la función de la proteína impidiendo la regulación de la vía alternativa del complemento en pacientes con SUHa<sup>42</sup>.

#### 4.3. Membrane Cofactor Protein (MCP)

El gen *MCP* pertenece al cluster del gen *RCA* en el cromosoma 1q32 y codifica una glicoproteína transmembrana de ≈65 kDa, producida en la mayoría de las células, incluyendo plaquetas y células endoteliales. La parte extracelular N-terminal de la proteína se compone de 4 dominios CCP implicados en la interacción de MCP con los componentes C3b y C4b. Sigue el dominio STP que es una región rica en serina-treonina-prolina, antes de llegar a la parte transmembrana y a la extremidad citoplasmática<sup>43</sup>. La mayoría de los cambios genéticos se encuentran en los dominios CCP de la proteína, con un total de 52 mutaciones observadas en el gen completo. Aproximadamente 75% de esas variantes genéticas inducen una pérdida de expresión de la proteína a la superficie celular, mientras que el 25% restante generan una proteína no funcional<sup>8</sup>. Se encuentran mutaciones de MCP en 10 a 20% de pacientes con SUHa.

Se observó la presencia de un haplotipo de riesgo, llamado *MCP<sup>ggaac</sup>*, dos veces más en cohortes de pacientes con SUHa que en la población normal<sup>34</sup>. Los ensayos *in vitro* demostraron que *MCP<sup>ggaac</sup>* reduce un 25% la actividad transcripcional, pero estos resultados no fueron confirmados *in vivo*.

#### 4.4. Complemento Factor B (CFB)

El gen *CFB* localizado en el cromosoma 6 se compone de 18 exones que codifican una glicoproteína de 90 kDa, la cual, después de su clivaje por CFD, formará parte de la C3 convertasa. Se compone de tres dominios CCP, un dominio von Willebrand tipo A (vWA) y un dominio serina proteasa. CFB se une a C3b para formar una pro-convertasa C3, activada durante la fragmentación de CFB por CFD. El sitio de corte de CFD entre los dominios CCP y vWA de CFB permite la liberación de las subunidades Ba y Bb. La unidad activa Bb sigue unida al C3b para formar la convertasa C3.

Se describieron unas 15 mutaciones en el gen *CFB*<sup>40</sup>, las cuales son observables en 1 a 5% de la población con SUHa<sup>20,38</sup>. Un trabajo reciente, estudiando los efectos de 10 nuevas variantes genéticas, mostró que sólo 6 mutaciones de 15, incluyendo las descritas anteriormente en la literatura, son directamente relacionadas a la patogénesis del SUHa<sup>44</sup>. Las mutaciones en CFB implican un aumento de la actividad enzimática con una formación más rápida de las convertasas o una disminución del proceso de desacoplamiento de las mismas.

#### 4.5. C3

La proteína C3, componente central del complemento, es una proteína sérica producida por el hígado. El gen que la codifica está localizado en el cromosoma 19p13.3 y contiene 41 exones. La proteína de 186 kDa se compone de una cadena  $\alpha$  y una cadena  $\beta$  unidas por puentes disulfuros. El clivaje de C3 resulta en la generación de la anafilatoxina C3a (9 kDa) y de la forma activa C3b (177 kDa), capaz de interactuar con la superficie celular por la presencia de su tioéster. En paralelo, la hidrólisis espontánea de C3 permite la formación de C3(H<sub>2</sub>O), de función equivalente a C3b dado que este componente puede unirse a CFB para formar la convertasa C3bBb posteriormente a la acción de CFD.

Se describieron alrededor de 50 mutaciones en el

gen *C3*, y son frecuentes en 2 a 10% de los pacientes con SUHa<sup>40</sup>. En 2015, un estudio demostró que 17 mutaciones generan un defecto en la unión de la proteína mutada a las proteínas CFH y/o MCP, implicando una disminución de la inactivación de C3b<sup>45</sup>.

### 5. Factores genéticos independientes del complemento y relacionados al SUHa

En 50% de los casos de SUHa no se encuentran anomalías del complemento, sugiriendo que otros factores podrían estar implicados en la patogénesis de la enfermedad. En los estudios más recientes de SUHa, se identificó el rol de dos genes relacionados a la vía de la coagulación, THBD (trombomodulina) y DGKE.

#### 5.1. THBD

La trombomodulina es un receptor de las células endoteliales que inhibe la actividad de la vía de la coagulación. La trombina se une al receptor para activar la proteína C, cuya acción es la degradación de los factores de coagulación V y VIII activados, reduciendo de este modo la generación de trombina. Se describieron 11 mutaciones en el gen THBD. El análisis funcional de la proteína mostró que la trombomodulina tiene un rol en la inactivación de las anafilatoxinas C3a y C5a y puede acelerar la inactivación de C3b actuando como un cofactor de CFI, en presencia de otros cofactores como CFH y CRI<sup>46</sup>.

#### 5.2. DGKE

La proteína de 64kDa es una kinasa de tipo III codificada por el gen *DGKE*, localizado en el cromosoma 17q22. La proteína DGKE es expresada en células endoteliales, podocitos y plaquetas. Su rol es regular la formación del diacilglicerol (DAG) metabolizándolo en ácido fosfatídico. El DAG es capaz de activar la proteína kinasa C (PKC) generando múltiples efectos como cambios en el tono vascular o liberación de factores pro-trombóticos. Estudios recientes permitieron identificar 13 variantes genéticas<sup>47-49</sup>. Generalmente, la enfermedad relacionada con anomalías de DGKE se presenta en los pacientes que debutan antes del primer año de vida. El curso de la enfermedad se suele acompañar de recidivas que progresan, en la mayoría de los casos, a enfermedad renal crónica.

## BIBLIOGRAFÍA

### Aspectos clínicos

- Rosove, M.H., *Thrombotic microangiopathies*. Semin Arthritis Rheum, 2014; 43(6): 797-805.
- Coppo, P; A. Veyradier, *Thrombotic microangiopathies: towards a pathophysiology-based classification*. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2009. 9(1): 36-50.
- Scully, M., et al., *Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies*. Br J Haematol, 2012. 158(3): 323-35.
- Loirat, C., et al., *An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children*. Pediatr Nephrol, 2016; 31(1): 15-39.
- Altuna, D., et al., *Microangiopatía Trombótica (MAT) en adultos y niños. Guías de Diagnóstico y Tratamiento* Sociedad Argentina de Hematología, 2015; 249-66.
- Palermo, M.S., R.A. Exeni, and G.C. Fernandez, *Hemolytic uremic syndrome: pathogenesis and update of interventions*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2009; 7(6): 697-707.
- Campistol, J.M. et al., *Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso*. Nefrología (English Edition), 2015; 35: 5: 421-47.
- Kavanagh, D. et al., *Atypical Hemolytic Uremic Syndrome*. Sem Neph, 2013; 33 (6): 508-30.
- Dragon-Durey, M.A. et al., *Clinical Features of Anti-Factor H Autoantibody-Associated Hemolytic Uremic Syndrome*. J Am Soc Nephrol, 2010; 21: 2180-87.
- Moake, J.L., *Thrombotic microangiopathies*. N Engl J Med, 2002. 347(8): p. 589-600.
- Veyradier, A., et al., *Severe deficiency of the specific von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS 13) activity in a subgroup of children with atypical hemolytic uremic syndrome*. J Pediatr, 2003. 142(3): p. 310-7.
- Feng, S., et al., *Partial ADAMTS13 deficiency in atypical hemolytic uremic syndrome*. Blood, 2013. 122(8): p. 1487-93.
- Peyvandi, F., et al., *Thrombotic microangiopathy without renal involvement: two novel mutations in complement-regulator genes*. J Thromb Haemost, 2016. 14(2): 340-5.
- Hofer, J. et al. *Extra-Renal Manifestations of Complement-Mediated Thrombotic Microangiopathies*. Front Pediatr, 2014; 2: 97.
- Shen YM., *Clinical evaluation of thrombotic microangiopathy: identification of patients with suspected atypical hemolytic uremic syndrome*. From The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis Taipei, Taiwan. 6-9 October 2016; Thromb J, 2016; 14(Suppl 1):19.
- George, J.N. and Nester, C.M., *Syndromes of Thrombotic Microangiopathy*. N Engl J Med, 2014; 371:654-66.
- Kavanagh, D. et al., *Screening for complement system abnormalities in patients with atypical hemolytic uremic syndrome*. Clin J Am Soc Nephrol, 2007; 2(3):591-6.
- Loirat, C. and Frémeaux-Bacchi, V., *Atypical hemolytic uremic syndrome*. Orphanet J Rare Dis, 2011; 6:60.
- Caprioli, J., et al., *Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome*. Blood, 2006; 108(4): 1267-79.
- Nester C.M. et al., *Atypical aHUS: State of the art*. Mol Imm, 2015; 67: 31-42.
- Delvaeye, M. et al., *Thrombomodulin Mutations in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome*. N Engl J Med, 2009; 361(4): 345-57.
- Lemaire, M. et al., *Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome*. Nat Genet, 2013; 45(5): 531-6.
- Sánchez Chinchilla, D. et al., *Complement Mutations in Diacylglycerol Kinase-Associated Atypical Hemolytic Uremic Syndrome*. Clin J Am Soc Nephrol, 2014; 9: 1611-19.
- Campbell, R.D. et al., *Structure, organization, and regulation of the complement genes*. Annu Rev Immunol, 1988; 6: 161-95.
- Merle, S. et al., *Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation*. Front. Immunol, 2015; 6:262.
- Morgan, B.P., *The membrane attack complex as an inflammatory trigger*. Immunobiology, 2016; 221(6): 747-51.
- Zipfel, P.F. and Skerka, C., *Complement regulators and inhibitory proteins*. Nat Rev Immunol, 2009; 9(10): 729-40.
- Morgan, H.P. et al., *Structural basis for engagement by complement factor H of C3b on a self surface*. Nat Struct Mol Biol, 2011; 18, 463-70
- Frémeaux-Bacchi, V. et al., *Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide*

- French series comparing children and adults.* Clin J Am Soc Nephrol, 2013; 8(4):554-62.
29. Noris, M. et al., *Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype.* Clin J Am Soc Nephrol, 2010; 5(10): 1844-59.
  30. Maga, T.K. et al., *Mutations in alternative pathway complement proteins in American patients with atypical hemolytic uremic syndrome.* Hum Mutat, 2010; 31(6):1445-60.
  31. Rodriguez, E. et al., *New functional and structural insights from updated mutational databases for complement factor H, Factor I, membrane cofactor protein and C3.* Biosci Rep, 2014; 34(5): e00146.
  32. Roumenina, L.T. et al., *Functional evaluation of factor H genetic and acquired abnormalities: application for atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS).* Methods Mol Biol, 2014; 1100:237-47.
  33. Caprioli, J. et al., *Complement factor H mutations and gene polymorphisms in haemolytic uraemic syndrome: the C-257T, the A2089G and the G2881T polymorphisms are strongly associated with the disease.* Hum Mol Gen, 2003;12(24): 3385-95.
  34. Esparza-Gordillo, J. et al., *Predisposition to atypical hemolytic uremic syndrome involves the concurrence of different susceptibility alleles in the regulators of complement activation gene cluster in Iq32.* Hum Mol Gen, 2005; 14 (5): 703-12.
  35. Pickering, M.C. et al., *Spontaneous hemolytic uremic syndrome triggered by complement factor H lacking surface recognition domains.* JEM, 2007, 204(6): 1249-56.
  36. Skerka, C. et al., *Complement factor H related proteins (CFHRs).* Mol Immunol, 2013; 56: 170-80.
  37. Francis, N.J., et al., *A novel hybrid CFH/CFHR3 gene generated by a microhomology-mediated deletion in familial atypical hemolytic uremic syndrome.* Blood, 2012; 119(2): 591-601.
  38. Dragon-Durey, M. A. et al., 2009. *The high frequency of complement factor H related CFHR1 gene deletion is restricted to specific subgroups of patients with atypical haemolytic uraemic syndrome.* J Med Gen, 2009; 46: 447-50.
  39. Kavanagh, D. et al., *Characterization of mutations in complement factor I (CFI) associated with hemolytic uremic syndrome.* Mol Immunol, 2008; 45(1): 95-105.
  40. Rodriguez de Cordoba, S. et al, *Genetics of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS).* Semin Thromb Hemost, 2014; 40(4).
  41. Bienaime, F. et al., *Mutations in components of complement influence the outcome of Factor I-associated atypical hemolytic uremic syndrome.* Kidney Int, 2010; 77: 339-39.
  42. Nilsson, S.C. et al., *Mutations in complement factor I as found in atypical hemolytic uremic syndrome lead to either altered secretion or altered function of factor I.* Europ J Immunol, 2010; 40: 172-185.
  43. Richards, A. et al., *Implications of the initial mutations in membrane cofactor protein (MCP; CD46) leading to atypical hemolytic uremic syndrome.* Mol Immunol, 2007; 44: 111-22.
  44. Marinozzi, M.C. et al, *Complement Factor B Mutations in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome—Disease-Relevant or Benign? J Am Soc Nephrol, 2014; 25(9): 2053-65.*
  45. Schramm, E.C. et al., *Mapping interactions between complement C3 and regulators using mutations in atypical hemolytic uremic syndrome.* Blood, 2015; 125(15):2359-69.
  46. Delvaeye, M., et al., *Thrombomodulin Mutations in Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome.* NEJM, 2009; 361: 345-57.
  47. Lemaire, M. et al., *Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome.* Nat Genet, 2013; 45(5): 531-6.
  48. Mele, C. et al., *Characterization of a New DGKE Intronic Mutation in Genetically Unsolved Cases of Familial Atypical Hemolytic Uremic Syndrome.* Clin J Am Soc Nephrol, 2015; 10(6):1011-9.
  49. Sánchez Chinchilla, D. et al., *Complement Mutations in Diacylglycerol Kinase-Associated Atypical Hemolytic Uremic Syndrome.* Clin J Am Soc Nephrol, 2014; 9: 1611-19.

## TRATAMIENTO

Dra. Andrea Mariana Exeni

Dra. Adriana Patricia Santiago

Es muy importante la diferenciación clínica entre el SUH típico y el atípico dado que en hasta un 30% de los pacientes con SUH atípico la condición amplificadora puede ser una gastroenteritis.

Es relevante poder realizar dosaje de actividad de ADAMTS 13 que en el SUH atípico a diferencia de la PTT debe ser >10% para plantearnos el tratamiento a abordar.



La primera línea de tratamiento en pacientes con SUHa es el eculizumab (anticuerpo monoclonal humanizado que inhibe la producción de los componentes terminales del complemento C5a y el complejo de ataque a la membrana mediante su unión a la proteína C5a del complemento a la proteínas) y no se requiere de confirmación genética de mutaciones en el complemento o la presencia de anticuerpos para iniciar su uso.

Sin embargo, existe un grupo de pacientes que no se benefician del uso de eculizumab por ser alteraciones independientes del complemento como es el caso de pacientes que presentan una mutación DGKE o el déficit de cobalamina C cuyo tratamiento se basa en hydroxycobalamina de administración parenteral en combinación con ácido fólico y betaína.

Reportes vinculan al retraso en el inicio del tratamiento con disminución de la recuperación renal y mayor progreso a la IRC por lo cual el inicio del tratamiento debe ser precoz

El hecho de que en Argentina la droga sea de uso compasivo nos enfrenta a la problemática de no tener disponibilidad inmediata de la misma y requerir en la emergencia iniciar terapias plasmáticas.

### Terapias plasmáticas

Las terapias plasmáticas son la infusión de plasma (IP) y el recambio plasmático (RP).

En la IP el paciente recibe plasma fresco congelado que contiene reguladores del complemento funcionales. En el RP se reemplaza el plasma del paciente con SHUa por FFP, con lo cual obtengo el beneficio de aportar proteínas reguladoras del complemento y a la vez eliminar inhibidores, anticuerpos anti-FH y posibles factores inflamatorios/trombogénicos que participan en el daño endotelial y la hiperagregación plaquetaria.

La utilidad de la plasmaféresis en el SUH atípico es de beneficio incierto, tiene alta tasa de complicaciones (infecciones, trombosis, isquemia, hemorragias, quilotorax) y no resuelve la desregulación crónica del complemento ni la MAT.

La Sociedad Americana de aféresis en 2013 señaló que la utilización de plasmaféresis en SUH atípico es grado 2C.

En caso de necesitar iniciar plasmaféresis, con o sin infusión de plasma fresco por no contar con eculizumab, debemos tomar en cuenta que se define

como falla de tratamiento luego de 3-5 días si el recuento plaquetario o la LDH no han normalizado o a creatinina no se ha reducido al menos un 25%. En estos casos se sugiere suspender la terapia.

En general el paciente con SUHa es sometido a plasmaféresis con infusión de plasma fresco. La infusión de plasma fresco sería útil solamente en pacientes con déficit completo de FH. En pacientes con mutaciones en MCP la TP no se considera eficaz y la remisión del paciente ocurre independientemente de su uso. La plasmaféresis debiera utilizarse únicamente en pacientes donde hay anticuerpos anti factor H o pacientes críticos con microangiopatía severa en los cuales se descarte PTT por medio de actividad de ADAMTS  $13 > 10\%$ .

En caso de poder determinar anticuerpos anti factor H el paciente podría beneficiarse del uso combinado de plasmaféresis más terapia inmunosupresora como metilprednisolona en combinación con ciclofosfamida, rituximab o micofenolato. Esta terapia no debiera discontinuarse por intercorrientes infecciosas dado que en esas situaciones es cuando el paciente es especialmente susceptible a recaídas. En caso en los cuales sospeche o confirme infecciones por gérmenes capsulados se suspenderá la terapia.

La decisión de utilizar plasmaféresis o eculizumab en estos pacientes dependerá de la edad del paciente y del acceso a la droga. En caso de que la utilización de la plasmaféresis fuera exitosa se plantea la monitorización de anticuerpos anti-factor H para valorar si se suspende la terapia cuando su nivel se mantuviese durante al menos un periodo de 6 meses pero esta recomendación se basa en reportes limitados de estudios retrospectivos.

En algunos casos se plantea el uso únicamente de infusión de plasma fresco, esta terapia sería efectiva solamente en los casos de pérdida de función de Factor H, Factor I, MCP o trombomodulina.

### Eculizumab

Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que se une a la proteína C5 del complemento e inhibe la activación del complemento terminal, preservando los primeros componentes de la activación que son esenciales para la opsonización de los microorganismos y la eliminación de inmunocomplejos.

Se administra por vía intravenosa durante 1-4

horas en pacientes pediátricos y el paciente debe permanecer en observación durante una hora después de la infusión. Si se produce un efecto adverso durante la administración, debe interrumpirse la infusión o reducir la velocidad de la misma, según el criterio del médico. Si se reduce la velocidad, la duración total de la perfusión no puede superar las dos horas en adolescentes y no más de 4 horas en niños menores de 12 años

Se debe vacunar a los pacientes 2 semanas previas con vacuna tetravalente anti-meningocócica dado que el complejo C5b-9 es el que brinda inmunidad frente a *Neisseria meningitidis*. Hay países donde el Meningococco B predomina y la vacuna anti-meningococco B está disponible. No se conoce la eficacia de la misma bajo el bloqueo del complemento. Por ese motivo los pacientes deben recibir profilaxis antibiótica con penicilina o macrólidos en caso de alergia, porque se desconoce la eficacia de la vacuna en el contexto de la injuria renal aguda, crónica y/o la inmunosupresión, por lo cual incluso después de la suspensión de la misma se deja la profilaxis durante 2-3 meses.

En algunos países se utiliza penicilina obligatoriamente durante solo dos semanas posteriores a la aplicación de la vacuna en pacientes que reciben eculizumab pero el consenso internacional de 2016 promueve que la profilaxis continúe.

Ni la vacuna ni la profilaxis proveen protección completa con lo cual debe haber educación importante a la familia.

Con respecto a los efectos adversos el más severo descrito fue la sepsis meningocócica.

Un efecto adverso muy frecuente (más de 1/10 pacientes) es la cefalea y dentro de los efectos adversos frecuentes (hasta 1/10 pacientes) diarrea, náuseas, vómitos, sepsis, alergias, entre otros. Su uso sostenido inhibe la activación del complemento y mejora los parámetros hematológicos y la función renal.

En un estudio multicéntrico prospectivo realizado en 22 pacientes <18 años se ha reportado que la droga es segura y eficaz en pacientes pediátricos y que hay una mayor recuperación de la función renal si se inicia el tratamiento con eculizumab lo más precoz posible una vez iniciado el cuadro en estudio el promedio de inicio fue de 2,5 semanas.

Aunque la mayoría tenía un filtrado glomerular  $\leq 30\text{ml/min/1,73 m}^2$  y la mitad de ellos estaba en diálisis a la semana de la infusión los pacientes ya presentaban recuperación de la función renal.

Aquellos pacientes que presentan severas manifestaciones extra renales pueden considerarse para el uso combinado de plasmaféresis con eculizumab sumado a inmunosupresores, en estos casos se utilizan dosis mayores de eculizumab.

Debe utilizarse en las dosis y la frecuencia sugerida (cada 2 semanas). Se han observado activación catastrófica del complemento en pacientes donde se discontinuó su uso.

#### Pacientes menores de 18 años (Ver Figura 1)

**Pacientes adultos:** 4 semanas de 900 mg y luego 1200mg cada 2 semanas

En caso de utilizarlo en pacientes que reciben plasmaféresis, debe suplementarse con 400 mg den-

**Figura 1. Pacientes menores de 18 años**

Peso corporal del paciente	Fase Inicial	Fase de Mantenimiento
30 - <40 kg	600 mg semanales x 2	900 mg la 3ª semana; después 900 mg cada 2 semanas
20 - <30 kg	600 mg semanales x2	600 mg la 3ª semana; después 600 mg cada 2 semanas
10 - <20 kg	600 mg semanales x 1	300 mg la 2ª semana; después 300 mg cada 2 semanas
5 - <10 kg	300 mg semanales x 1	300 mg la 2ª semana; después 300 mg cada 3 semanas

tro de los 60 minutos posteriores a cada sesión si la dosis reciente fue de 300 mg y con 600 mg en caso de que la dosis hay sido  $\geq 600$  mg.

En aquellos pacientes que reciben infusiones de plasma fresco si la dosis recibida fue  $\geq 300$  mg debe administrarse 300 mg dentro de los 60 minutos previo a cada infusión de plasma fresco.

El bloqueo del complemento puede monitorearse a través de la evaluación del CH50 que evalúa la actividad combinada de las vías del complemento. Para indicar que hay bloqueo del complemento el valor debe ser  $< 10\%$  del normal (*AH50 Niveles de eculizumab*).

No se conoce el tiempo exacto que los pacientes deben continuar con el tratamiento de eculizumab, no hay estudios que puedan asegurar que al retirarlo el paciente no presente nuevamente MAT.

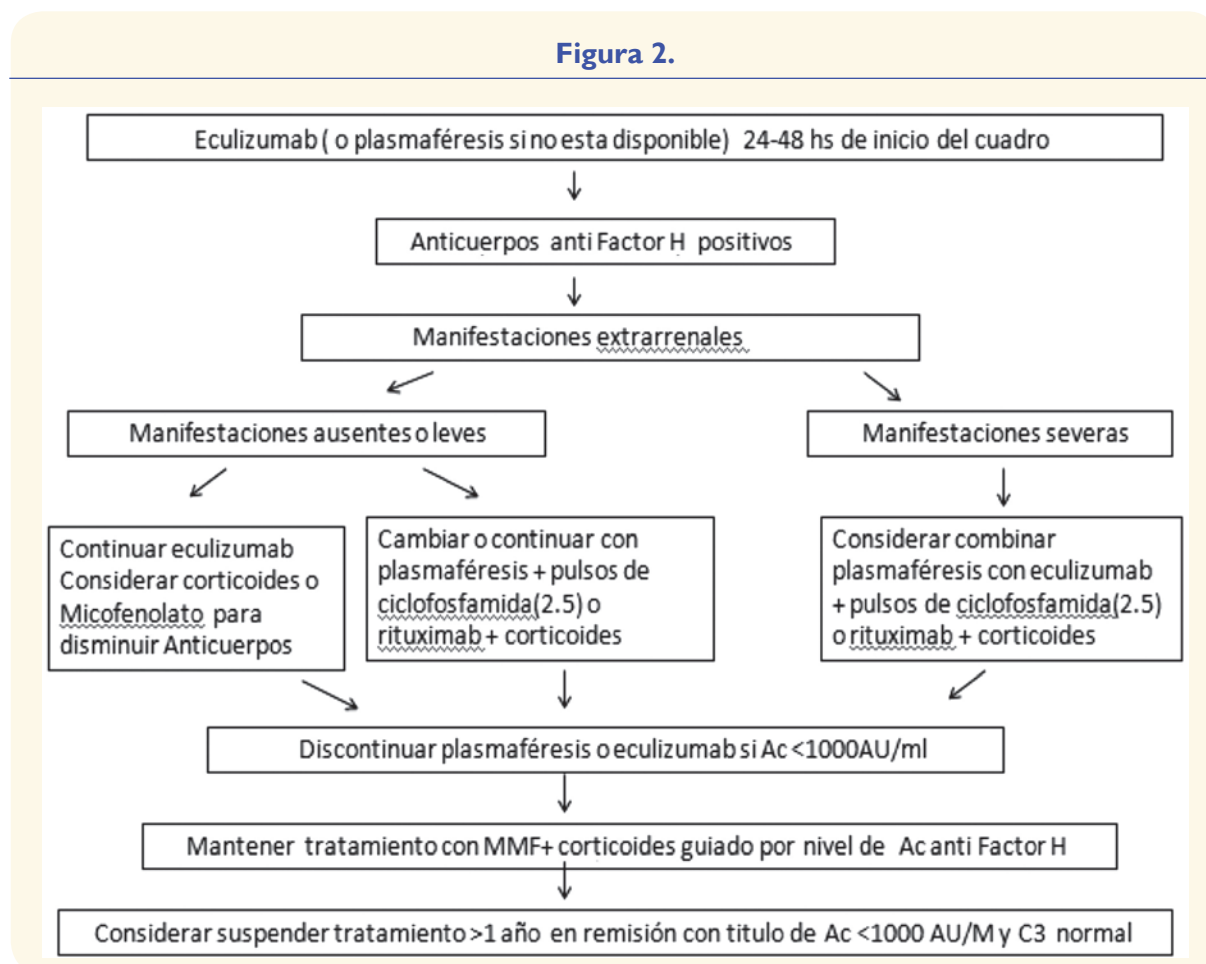
### Trasplante renal

Antes de la era eculizumab el riesgo de recurrencia del SUH atípico era del 60% y la supervivencia del injerto a 5 años del 30% comparado con el 68% de aquellos que no habían recurrido en trasplantes previos. El 43% de recurrencia dentro del primer mes post trasplante y el 70% dentro del primer año post trasplante. En aquellos casos que el injerto había sido perdido en un trasplante previo por recurrencia el riesgo de recurrencia se elevaba al 80%.

Los pacientes pueden recuperar parcialmente su función renal con lo cual ningún paciente en diálisis recibiendo terapia con eculizumab debiera trasplantarse antes de los 6 meses.

Aquellos pacientes con SUH atípico (SUH a) que requieren trasplante renal pueden tener identificada su mutación del complemento, mutación

Figura 2.



del DGKE, no tener mutación identificada o tener anticuerpos anti-factor H.

Estos pacientes tienen riesgo de recurrencia en el trasplante y por este motivo es conveniente tener acceso a eculizumab en esta situación.

Clásicamente se evitó el donante vivo relacionado por la elevada tasa de recurrencia y porque el donante podía presentar mutaciones que lo pusieran en riesgo de presentar SUHa. Actualmente debido al avance de las determinaciones genéticas se evalúa cada caso en particular sólo si se identificó la mutación en el receptor y se estudió al donante y éste no la presenta.

Acorde al consenso internacional de 2016 se recomienda realizar trasplante con donante vivo relacionado solo en aquellos casos en que la mutación genética ha sido identificada en el receptor y es indiscutiblemente responsable en la patogénesis del SUHa y ésta no está presente en el donante y se dispone de eculizumab. En todos los otros casos se

prefiere la realización de trasplante renal con donante cadavérico.

Puede contribuir a la recurrencia todos aquellos factores que lesionen el endotelio por este motivo se debe evitar la isquemia fría prolongada, el donante de corazón parado, y es conveniente controlar infecciones, evitar esquemas inmunosupresores con mTor, controlar la hipertensión arterial con inhibidores de la enzima de conversión y bloqueantes de receptor de angiotensina II y la aterosclerosis con estatinas.

Se recomienda utilizar eculizumab como profilaxis previo al trasplante en aquellos con alto riesgo de recurrencia (pacientes con mutaciones en factor H, C3 o factor B o que ha perdido injertos previos independiente de la mutación genética), En los pacientes con riesgo intermedio (una mutación del factor I o mutación combinada del MCP) se utiliza eculizumab o plasmaféresis de manera profiláctica en el trasplante y aquellos de bajo riesgo (aquellos con mutación aislada de MCP o mutación DGKE,

Figura 3.

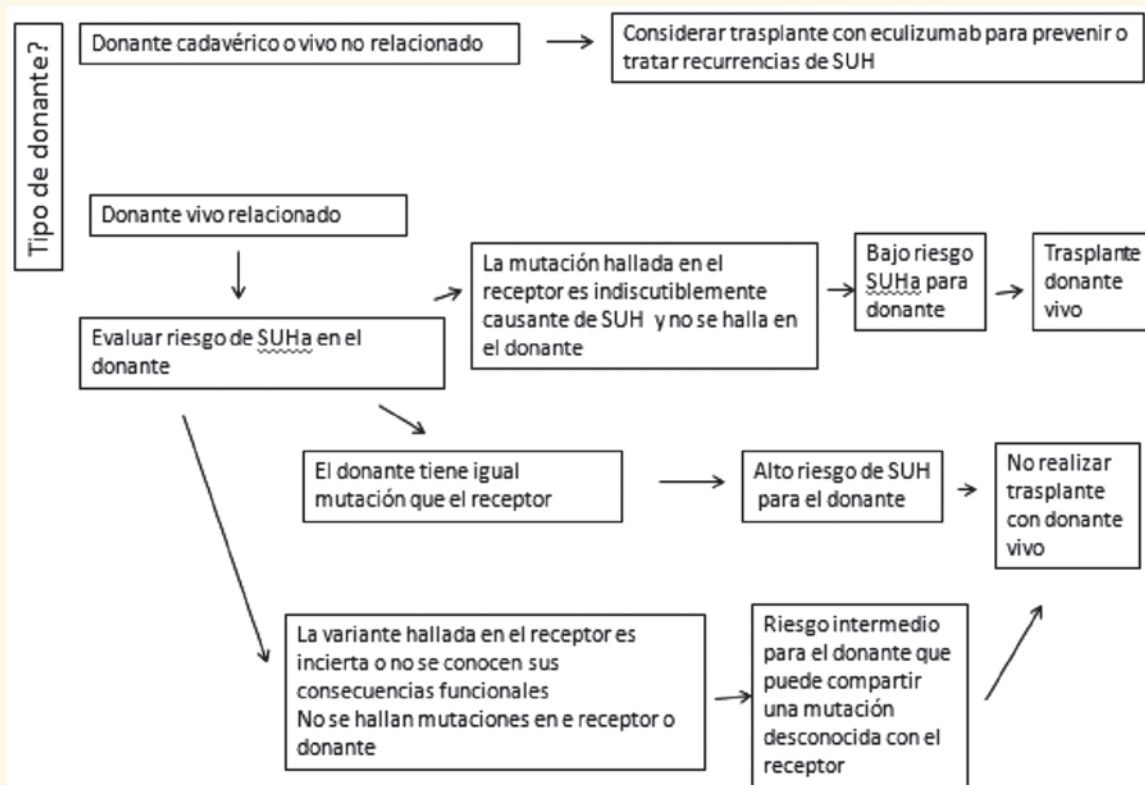
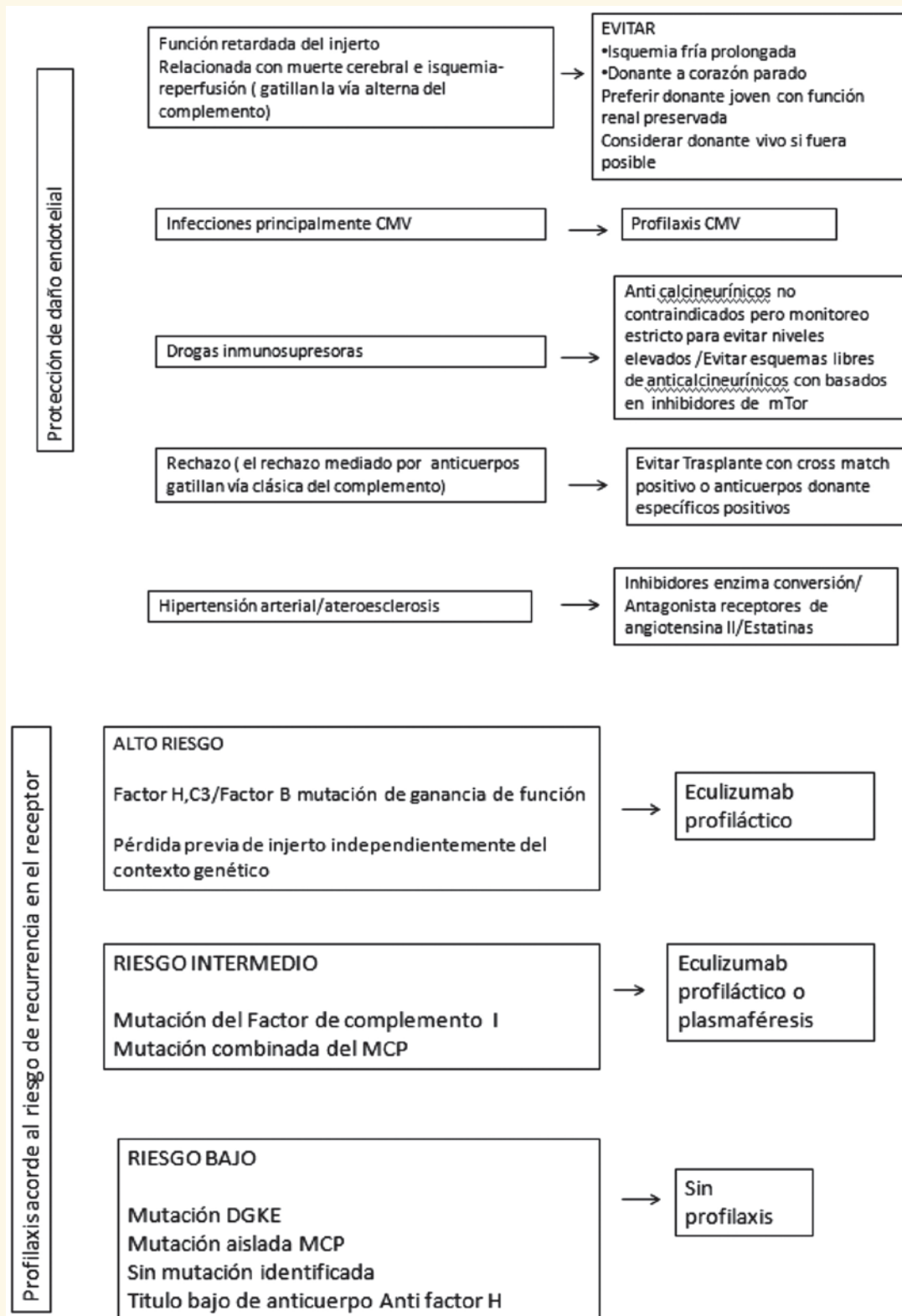


Figura 4.



o bajos títulos de Ac anti factor H o sin mutación identificada ) no requieren tratamiento.

Se propone en pacientes de bajo riesgo de recurrencia y en casos de trasplante renal con donante cadavérico la utilización de eculizumab post trasplante, En pacientes con alto riesgo de recurrencia independientemente del tipo de donante debe utilizarse el eculizumab profilácticamente antes y después del trasplante

## BIBLIOGRAFÍA

- Greenbaum et al. Eculizumab in pediatric patients with aHUS. *Kidney International* (2016) 89, 701-711LA
- Loirat et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* (2016) 31:15-39.
- Campistol et al. Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso *Nefrología (Madr.)* 2013;33:27-45.
- Lermaire M et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet.* 2013 May;45(5):531-6. doi: 10.1038/ng.2590. Epub 2013 Mar 31.