



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

**Síndrome Hemolítico Urémico Atípico Primario: Incidencia,
manifestaciones clínicas, substrato genético, evolución,
pronóstico y respuesta al tratamiento en una cohorte de 48
pacientes**

Autora: Mercedes Cao Vilariño

Tesis doctoral UDC - 2020

Directores: Francisco Valdés Cañedo

María Teresa Seoane Pillado

Tutora: María Teresa Seoane Pillado

Programa de doctorado en Departamento de Fisioterapia, Medicina y Ciencias biomédicas

Facultad Ciencias de la Salud

UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Síndrome Hemolítico Urémico Atípico Primario: Incidencia, manifestaciones clínicas, substrato genético, evolución, pronóstico y respuesta al tratamiento en una cohorte de 48 pacientes

Autora: Mercedes Cao Vilariño

Tesis doctoral UDC - 2020

Directores:

Francisco Valdés Cañedo

María Teresa Seoane Pillado

Departamento de Fisioterapia, Medicina y Ciencias biomédicas



Maria Teresa Seoane Pillado, Doctora en Medicina por la Universidad de A Coruña

Y

D. Francisco Valdés Cañedo, Doctor en Medicina por la Universidad de A Coruña

Certifican

Que el trabajo contenido en la presente memoria y titulado:

Síndrome Hemolítico Urémico Atípico Primario: Incidencia, manifestaciones clínicas, substrato genético, evolución, pronóstico y respuesta al tratamiento en una cohorte de 48 pacientes

Que para optar al grado de Doctor presenta Mercedes Cao Vilariño, Licenciada en Medicina, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne las características precisas para su presentación y defensa como Tesis Doctoral.

A Coruña, 20 de Febrero de 2020

Fdo. María Teresa Seoane Pillado

Fdo. Francisco Valdés Cañedo

**A repensar lo pensado
a desaber lo sabido
a dudar de su propia duda,
que es el único modo de empezar a creer en algo**

Antonio Machado

*A Carlos y a mis hijos, mis certezas,
porque el proyecto de uno siempre es de todos.*

*A mis padres y a mis hermanas
que me enseñaron el valor de la familia*

AGRADECIMIENTOS

- A mis directores de tesis Francisco Valdés Cañedo, Salvador Pita Fernández y María Teresa Seoane Pillado:
- A Francisco Valdés Cañedo, uno de mis principales maestros en la nefrología, que me enseñó que el conocimiento es más útil si se adquiere de manera crítica y además es más satisfactorio. Mi más sincero agradecimiento porque me animó a empezar esta tesis y porque me acompañó hasta el final
- A Salvador Pita Fernández, trabajador incansable, que ayudó con sus conocimientos al crecimiento en la investigación a tantos compañeros.
- A María Teresa Seoane Pillado por su elegancia e infinita paciencia aportando matices que mejoraron este trabajo.
- A Rocío por su inestimable labor manteniendo la base de datos y constante apoyo minimizando las dificultades para concluir este estudio.
- A Ángel Alonso que siempre me animó a darle continuidad a este trabajo.
- Al equipo de Nefrología y unidad de Aféresis por su inestimable labor en el manejo de los pacientes con SHUa, porque con sus cuidados, que van más allá del cumplimiento del deber, han hecho más llevadera esta terrible enfermedad.
- A los patólogos, Eduardo Martull y Juan Mosquera, que nos apoyaron con sus conocimientos en la toma de decisiones difíciles, incluso en esta enfermedad donde la histología no es necesaria para el diagnóstico.
- A Santiago Rodríguez de Córdoba y a Emi por los estudios genéticos y su estrecha colaboración a pesar de la distancia.
- A los inmunólogos, siempre dispuestos a contribuir con su trabajo.
- Al servicio de farmacia, por hacer equipo.
- A los pacientes, por confiar en nosotros, a pesar de todo lo que aún no sabemos, especialmente a aquellos que ya no están porque no pudieron disfrutar de los avances de los que ahora disponemos.
- ...En definitiva a todos los que me ayudaron de una manera u otra a llegar hasta aquí y a los que luchan por mantener y mejorar la sanidad pública, que nos hace más dignos a todos como personas y como país.

INDICE

1	RESUMEN	1
1.1	RESUMEN	3
1.2	ABSTRACT	3
1.3	RESUMO	4
2	INTRODUCCIÓN	7
2.1	DEFINICIÓN	7
2.2	EPIDEMIOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS	8
2.3	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: BASES CLÍNICAS, GENÉTICAS Y MOLECULARES	10
2.4	MECANISMOS PATOGENICOS: EL PAPEL DEL COMPLEMENTO	14
2.4.1	Vía alternativa del complemento	16
2.4.2	Proteínas reguladoras de la actividad de la vía alternativa del complemento	18
2.4.3	Proteínas reguladoras de la actividad de la vía final del complemento	21
2.5	MUTACIONES GENÉTICAS Y ALTERACIONES ADQUIRIDAS DE LAS PROTEÍNAS REGULADORAS DEL COMPLEMENTO EN EL SHUA	21
2.6	EVOLUCIÓN, PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO	24
3	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	33
4	OBJETIVOS	37
5	MATERIAL Y MÉTODOS	41
5.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	41
5.1.1	Tipo	41
5.1.2	Población	41
5.1.3	Ámbito	41
5.1.4	Período del estudio	41
5.1.5	Seguimiento	41
5.1.6	Asignación	41
5.1.7	Criterios de inclusión	41
5.1.8	Criterios de exclusión	42
5.1.9	Recolección de los datos	42
5.2	DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	42
5.2.1	Variables predictivas	43
5.2.2	Estudios genéticos y funcionales del complemento	46
5.2.3	Variables de respuesta	48
➤	Incidencia	48
➤	Prevalencia	49
➤	Normalización hematológica de la MAT	49
➤	Recuperación íntegra de la función renal	49
➤	Insuficiencia renal crónica	49
➤	Insuficiencia renal terminal	50
➤	Hipertensión arterial permanente	50
➤	Recidiva	50
➤	Supervivencia del paciente	50

➤ Supervivencia renal.....	51
5.3 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	51
6 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.....	55
7 RESULTADOS.....	59
7.1 PACIENTES.....	59
7.2 SEGUIMIENTO.....	60
7.3 INCIDENCIA Y PREVALENCIA.....	60
7.3.1 Incidencia.....	60
7.3.2 Prevalencia.....	61
7.4 CARACTERÍSTICAS BASALES.....	62
7.4.1 Características basales según la edad.....	64
7.4.2 Características basales según el sexo.....	65
7.5 VARIANTES GENÉTICAS.....	69
7.5.1 Pacientes afectados.....	69
7.5.2 Tipología de las variantes.....	69
7.5.3 Tipología y características de las variantes genéticas descritas por primera vez.....	72
7.5.4 Deleción CFHR1-CFHR3.....	75
7.5.5 Haplotipos de riesgo en CFH (H3) y MCP ggaac.....	75
7.6 ESTUDIOS FUNCIONALES.....	77
7.6.1 Valores plasmáticos de C3 y C4.....	77
7.6.2 Valores plasmáticos de FH y FI.....	78
7.6.3 Expresión de MCP en linfocitos en sangre periférica.....	79
7.7 NORMALIZACIÓN HEMATOLÓGICA.....	79
7.8 AFECTACIÓN RENAL.....	83
7.8.1 Evolución de la enfermedad renal al año del episodio inicial.....	84
7.8.2 Recuperación de la función renal íntegra o parcial.....	85
7.8.3 Entrada definitiva en diálisis.....	87
7.8.4 Tratamiento con eculizumab.....	89
7.8.5 Supervivencia renal.....	91
7.8.6 Hipertensión arterial.....	93
7.9 RECIDIVA.....	94
7.10 TRASPLANTE RENAL.....	96
7.10.1 Características basales.....	96
7.10.2 Episodios de recidiva.....	98
7.10.3 Supervivencia del paciente y del injerto.....	99
7.11 SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES EN LA COHORTE.....	101
7.12 PREVALENCIA Y MODALIDAD DEL TRATAMIENTO.....	103
8 DISCUSIÓN.....	107
8.1 SEGUIMIENTO.....	107
8.2 INCIDENCIA Y PREVALENCIA.....	107
8.3 CARACTERÍSTICAS BASALES.....	110
8.4 VARIANTES GENÉTICAS.....	113
8.4.1 Pacientes afectados.....	113

8.4.2	Tipología de las variantes	113
8.4.3	Variantes descritas por primera vez	113
8.4.4	Haplotipos de riesgo en CFH y MCP.....	114
8.5	<i>ESTUDIOS FUNCIONALES</i>	115
8.5.1	Valores plasmáticos de C3 y C4	115
8.5.2	Valores plasmáticos de FH y FI.....	116
8.5.3	Expresión de MCP en linfocitos de sangre periférica	116
8.6	<i>NORMALIZACIÓN HEMATOLÓGICA</i>	117
8.7	<i>AFECCIÓN RENAL</i>	118
8.7.1	TRATAMIENTO CON ECULIZUMAB.....	118
8.7.2	HIPERTENSIÓN ARTERIAL	120
8.8	<i>RECIDIVA</i>	120
8.9	<i>TRASPLANTE RENAL</i>	121
8.10	<i>SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES</i>	123
9	LIMITACIONES	127
9.1	<i>SESGOS DE SELECCIÓN</i>	127
9.2	<i>SESGOS DE INFORMACIÓN</i>	127
9.3	<i>ERROR ALEATORIO Y CONFUSIÓN</i>	128
10	PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS	131
11	CONCLUSIONES	155
12	BIBLIOGRAFÍA	159
13	ANEXOS	174
13.1	<i>AUTORIZACIÓN DEL CEIC DE GALICIA</i>	174

FIGURAS

<i>Figura 1: Imagen de MAT. Presencia de trombos plaquetarios ocluyendo las luces capilares, engrosamiento del espacio subendotelial y detritus celulares. Cortesía del Dr. J. Mosquera. Servicio de Anatomía patológica. Hospital Universitario de A Coruña</i>	<i>7</i>
<i>Figura 2: Algoritmo de diagnóstico diferencial propuesto por el grupo de trabajo de la SEN, documento de consenso, Nefrología 2.015</i>	<i>11</i>
<i>Figura 3: Clasificación propuesta por Fakhouri y colaboradores, Lancet 2.017.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 4: Algoritmo diagnóstico de SHUa propuesto por el grupo de estudio de KDIGO, Goodship y colaboradores Kidney Int. 2.017.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 5: La vía alternativa del complemento.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 6: Factores reguladores del complemento</i>	<i>20</i>
<i>Figura 7: Pacientes seleccionados para el estudio entre los diagnosticados de MAT/SHUa/PTT con el sistema CIE-9 MC, en el Hospital Universitario de A Coruña. 1984-2015.....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 8: Número de casos por quinquenios en población pediátrica/adolescente y adulta diagnosticados de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 9: Incidencia por millón de pacientes diagnosticados de SHUa en población pediátrica/adolescente y adulta en el Hospital Universitario A Coruña. 1984-2015.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 10: Prevalencia por millón de pacientes diagnosticados de SHUa al final del periodo de reclutamiento en población total y desglosado en población adulta y pediátrica/adolescente.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 11. Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 12: Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier según sean o no portadores de variantes de CFH, en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña</i>	<i>82</i>
<i>Figura 13: Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier según la edad, en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña.....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 14: Evolución de la función renal al año y éxitus según requerimiento de diálisis a la presentación en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>83</i>
<i>Figura 15: Evolución trimestral de los valores (media y DT) de la creatinina plasmática en los 25 pacientes con recuperación íntegra de la función renal al año del episodio inicial.....</i>	<i>85</i>
<i>Figura 16: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>91</i>
<i>Figura 17: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según sean o no portadores en CFH en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>92</i>
<i>Figura 18: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según sean o no portadores en CFHRs en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>92</i>
<i>Figura 19: : Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según tratamiento con eculizumab o plasmaterapia en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña</i>	<i>93</i>
<i>Figura 20: Supervivencia de los 19 pacientes diagnosticados de SHUa receptores de 26 trasplantes renales en el Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>100</i>
<i>Figura 21: Supervivencia del injerto en 26 trasplantes renales realizados en 19 receptores diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña.....</i>	<i>100</i>

<i>Figura 22: Supervivencia del injerto en pacientes diagnosticados de SHUa receptores de un trasplante renal con y sin recidiva de la enfermedad en el injerto.....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 23: Supervivencia de los 48 pacientes diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>101</i>
<i>Figura 24: Situación con respecto a la función renal de los pacientes prevalentes de SHUa al final del periodo de seguimiento en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña</i>	<i>103</i>

TABLAS

Tabla 1: Frecuencia de mutaciones en los factores reguladores del complemento, según localización geográfica.....	22
Tabla 2: Características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña.1984-2015	62
Tabla 3: Factores desencadenantes de SHUa en relación a edad y sexo en la población diagnosticada de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña.....	63
Tabla 4: Comparación según la edad de las características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña.....	67
Tabla 5: Comparación según el sexo de las características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña.....	68
Tabla 6: Edad, sexo, tipologías genéticas de las variantes y haplotipos de riesgo detectados en los 37 pacientes estudiados de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña.....	70
Tabla 7: Frecuencia y tipología de las variantes detectadas en los 37 pacientes estudiados genéticamente en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña según edad y sexo.....	72
Tabla 8: Edad, sexo, tipología de las variantes y haplotipos de riesgo en CFH y MCP de los nueve pacientes portadores de variantes descritas por primera vez en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña diagnosticados de SHUa	73
Tabla 9: Edad, sexo y haplotipos de riesgo en CFH y MCP de los 16 pacientes sin variantes genéticas identificadas diagnosticados de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña.....	76
Tabla 10: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y valores plasmáticos de C3 y C4 en 11 pacientes con hipocomplementemia C3, con SHUa, de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña.....	77
Tabla 11: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y valores plasmáticos de FH en cuatro pacientes con valores plasmáticos de FH inferiores a los valores normales de referencia de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña	78
Tabla 12: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y expresión de MCP en linfocitos de sangre periférica en cuatro pacientes con valores de MCP inferiores a los normales de referencia de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña.....	79
Tabla 13: Frecuencia de recuperación hematológica y hazard ratio (IC95%) según edad, sexo, tipo de variante genética y carácter familiar de 48 pacientes de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña con SHUa.....	81
Tabla 14: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de fracaso renal agudo con necesidad de diálisis según tipo de variantes genéticas portadas en los 48 pacientes de SHUa de la cohorte del Hospital Universistario de A Coruña	84
Tabla 15: Tiempo de permanencia en diálisis y en plasmaterapia y valores plasmáticos de creatinina (mediana y rango intercuartil) y fracaso renal agudo en los 21 pacientes que pudieron abandonar el tratamiento substitutivo por recuperación completa o parcial de la función renal con diagnóstico de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña86	
Tabla 16: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de recuperación completa de la función renal, según edad, sexo, diálisis inicial, variantes genéticas y carácter familiar en la cohorte de 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña.....	87
Tabla 17: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de entrada definitiva en diálisis de los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña.....	88

Tabla 18: Cálculo de HR e IC 95% según modelo de regresión de Cox para ajustar entrada definitiva en diálisis según edad y variantes patogénicas en CFH-CFHRs	89
Tabla 19: Riesgo absoluto, reducción de riesgo absoluto (RAR), riesgo relativo y número de pacientes necesarios a tratar para reducir un evento de pérdida de la función renal al año del diagnóstico tratados con eculizumab vs plasmaterapia, en 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña	90
Tabla 20: Prevalencia de hipertensión arterial al final del seguimiento en la población según edad y sexo en la cohorte de 48 pacientes con diagnóstico de SHUa del Hospital Universitario A Coruña.....	94
Tabla 21: Riesgo absoluto, reducción de riesgo absoluto (RAR) y riesgo relativo de recidiva de SHUa en riñones nativos según edad, sexo, características genéticas y presentación familiar o esporádica y tratamiento con eculizumab/plasmaterapia de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña	96
Tabla 22: Características demográficas, tipo de trasplante (vivo/cadáver), tipología de las variantes genéticas y tratamiento con eculizumab de los 19 pacientes receptores de trasplante renal en la cohorte de pacientes diagnosticados de SHUa del Hospital Universitario A Coruña.....	98
Tabla 23: Causa del éxitus, tiempo desde el diagnóstico de la enfermedad y situación clínica en los pacientes diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña	102

ABREVIATURAS:

- ADAMTS 13: A desintegrin like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif number13
- CCP: complement control protein
- CD59: protectina
- CFB: complemento Factor B
- CFD: complemento Factor D
- CFH: complemento Factor H
- CFI: complemento Factor I
- CIE 9 MC: Clasificación internacional de enfermedades-9-modificación clínica
- CSIC: Centro Superior de Investigaciones Científicas
- DAA: Decay accelerating activity (Actividad del acelerador del decaimiento)
- DAF: Decay accelerating factor (Factor acelerador del decaimiento de convertasas)
- DGKE: Diacilglicerolkinasa epsilon
- DS: desviación típica
- eGFR: filtrado glomerular renal estimado
- Hg: mercurio
- HR: hazard rate
- HUAC: Hospital Universitario de A Coruña
- IC: intervalo de confianza
- KDIGO: kidney diseases improvement global outcomes
- LDH: lactato deshidrogenasa
- MAT: microangiopatía trombótica
- MCP: membrana cofactor protein
- Md: mediana
- MLPA: multiple ligation probe amplification
- MMACHC: codificador para aciduria metilmalónica y homocisteína C
- NGS: secuenciación de nueva generación

- NNT: número de pacientes a tratar
- PIG: fosfoinositol glicolípido
- PKC: proteinkinasa C
- PTT: púrpura trombótica trombocitopénica
- RA: riesgo absoluto
- RAR: reducción del riesgo absoluto
- RCA: regulators of complement activation
- RIQ: rango intercuartil
- RR: riesgo relativo
- RRR: reducción de riesgo relativo
- SCR: short consensus repeat
- SEN: Sociedad española de Nefrología
- SHU: síndrome hemolítico urémico
- SHUa: síndrome hemolítico urémico atípico
- STEC: shiga toxina escherichia coli
- THBD: trombomodulina
- VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

Resumen

1 RESUMEN

1.1 RESUMEN

El Síndrome hemolítico urémico atípico primario es una microangiopatía mediada por el complemento.

Estudiamos presentación, evolución y pronóstico en relación con edad, sexo, y trastornos genéticos en una cohorte de 48 pacientes diagnosticados de éste en el Hospital Universitario A Coruña. 40 adultos, 25 mujeres, 39 esporádicos.

Los adultos presentaron con mayor frecuencia Hb < 11g/dl, valores de LDH inferiores, de creatinina superiores, mayor frecuencia de diálisis y de HTA. La creatinina plasmática fue superior en las mujeres. 57% de los 37 estudiados presentaron variantes genéticas, 11 no descritas previamente.

94% tuvieron recuperación hematológica, 48% entraron en diálisis. La supervivencia renal a 1, 5 y 10 años fue de 56%, 53% y 50% respectivamente. Todos los pacientes con eculizumab abandonaron la diálisis (80% recuperaron íntegramente función renal) (NNT = 1,96). 21% tuvieron recidiva en los riñones nativos y 46% en los injertos, que condicionó el 91% de las pérdidas. 19 pacientes recibieron 26 injertos. Los tratados con eculizumab no experimentaron recidiva y mantienen injerto funcional. Mortalidad total 14%. Supervivencia de pacientes a 1, 5 y 10 años, 98%, 96% y 90% respectivamente. Al final del seguimiento 45% mantienen función renal íntegra, 19% tienen injerto funcional y 23% permanecen en diálisis.

1.2 ABSTRACT

Primary atypical hemolytic uremic syndrome is a complement-mediated microangiopathy.

We studied presentation, evolution and prognosis in relation to age, sex, and genetic disorders in a cohort of 48 patients with this diagnostic in the University Hospital A Coruña. 40 adults, 25 women, 39 sporadic.

Adults had with higher frequency Hb <11g/dl, lower LDH values, higher creatinine levels, higher dialysis frequency and of HTA. Plasmatic creatinine was higher in women. 57% of the 37 studied presented genetic variants, 11 not previously described.

94% had hematological recovery, 48% went on dialysis. The renal survival at 1, 5 and 10 years was 56%, 53% and 50% respectively. All patients with eculizumab abandoned dialysis (80% fully recovered renal function) (NNT = 1.96). 21% had recurrence in the native kidneys and 46% in the grafts, which conditioned 91% of the losses. 19 patients received 26 grafts. Those treated with eculizumab did not experience recurrence and maintain a functioning graft. Total mortality 14%. Survival of patients at 1, 5 and 10 years, 98%, 96% and 90% respectively. At the end of the follow-up 45% maintain complete renal function, 19% have functioning grafts and 23% remain on dialysis.

1.3 RESUMO

A Síndrome hemolítica urémica atípica primaria é unha microangiopatía mediada polo complemento.

Estudamos presentación, evolución e prognóstico en relación coa idade, sexo e trastornos xenéticos nunha cohorte de 48 pacientes diagnosticados dela, no Hospital Universitario A Coruña. 40 adultos, 25 mulleres, 39 esporádicos.

Os adultos tiñan cunha frecuencia máis alta Hb <11g/dl, valores inferiores de LDH, niveis de creatinina máis altos, maior frecuencia de diálise e de HTA. A creatinina plasmática foi maior nas mulleres. 57% dos 37 estudados presentaron variantes xenéticas, 11 non descritas anteriormente.

94% tivo recuperación hematolóxica, 48% foi a diálise. A supervivencia renal aos 1, 5 e 10 anos foi do 56%, 53% e 50% respectivamente. Todos os pacientes con eculizumab abandoaron a diálise (80% recuperou a función renal totalmente) (NNT=1,96). O 21% presentaba recorrencia nos riles nativos e o 46% nos enxertos, o que condicionou o 91% das perdas. 19 pacientes recibiron 26 enxertos. Os tratados con eculizumab non experimentaron recidiva e mantiveron un enxerto funcionante. Mortalidade total 14%. Supervivencia de pacientes a 1, 5 e 10 anos, 98%, 96% e 90% respectivamente. Ao final do seguimento, o 45% mantén a función renal completa, o 19% ten enxertos funcionantes e o 23% seguen en diálise.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 DEFINICIÓN

El síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) es una entidad rara que afecta en forma esporádica o familiar y con carácter recidivante a pacientes pediátricos y adultos de ambos sexos. Se caracteriza por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y daño renal agudo, y su pronóstico es severo porque puede producir la muerte o a la pérdida definitiva de la función renal. Su substrato histopatológico es una microangiopatía trombótica con daño endotelial y depósito de trombos plaquetarios que ocluyen la luz vascular en todo tipo de territorios, aunque con predominio en la circulación renal (Fig. 1).

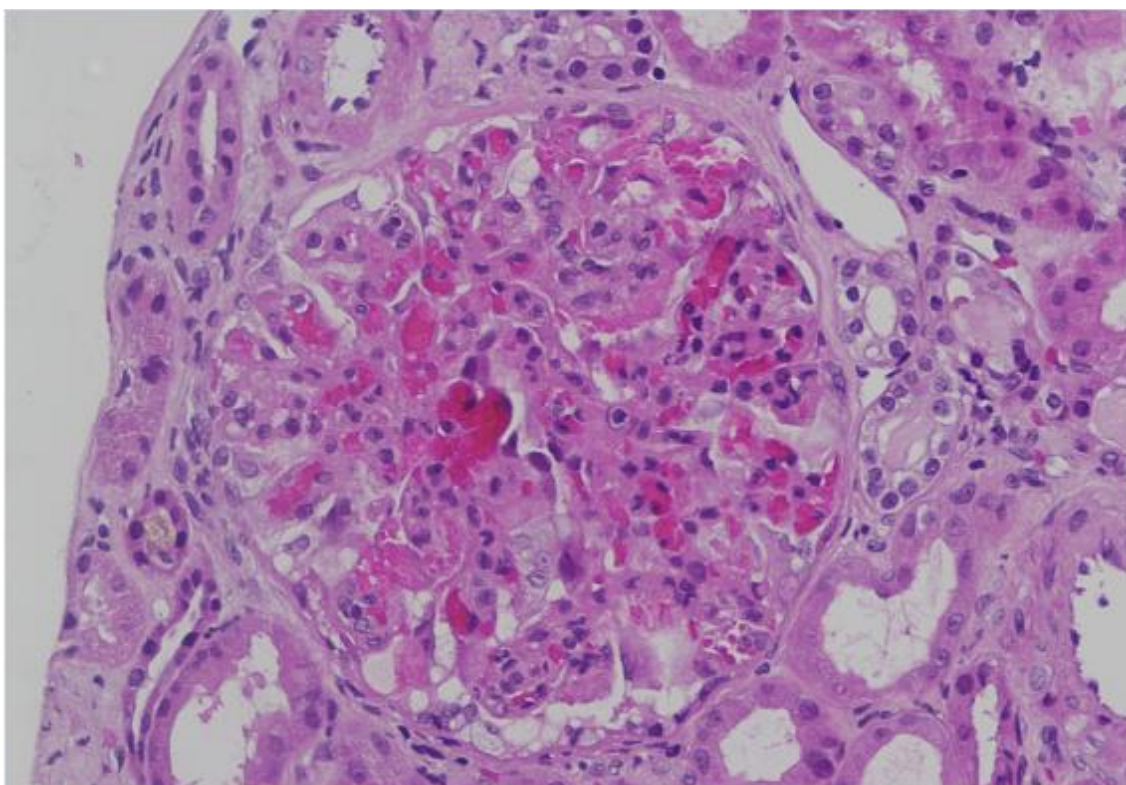


Figura 1: Imagen de MAT. Presencia de trombos plaquetarios ocluyendo las luces capilares, engrosamiento del espacio subendotelial y detritus celulares. Cortesía del Dr. J. Mosquera. Servicio de Anatomía patológica. Hospital Universitario de A Coruña

Hasta el año 2011 se consideró como enfermedad huérfana al carecer de un tratamiento farmacológico basado en lo que parece su mecanismo patogénico fundamental: la alteración genética o adquirida en las proteínas reguladoras de la actividad de la vía alternativa del complemento (1), (2), (3).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El SHUa es una entidad muy poco frecuente. Está catalogada como una enfermedad rara según los criterios de la Unión Europea que define como enfermedades raras a aquellas cuya prevalencia es inferior a cinco casos por cada 10.000 habitantes de la comunidad (4). Los datos epidemiológicos disponibles son limitados y la incidencia varía entre 0,4 y 1,9 pacientes por millón en función de la población estudiada y de la metodología utilizada (5) (6-8). En Europa se ha estimado una prevalencia en pacientes menores de 18 años de edad de 3,3 pacientes por millón de habitantes, desde que se conocieron los resultados de un estudio sobre 167 pacientes de diversos países realizado por la Sociedad Europea de Nefrología en 2006 (9).

La frecuencia del SHUa podría estar infraestimada como siguieren los resultados de algún laboratorio de referencia que revelan altas tasas de pacientes con SHUa diagnosticados erróneamente como PTT (10) o los de un meta-análisis reciente que revela un incremento notable de casos publicados entre 2000 y 2005 (11)

La forma esporádica de presentación es la más frecuente. La familiar se produce entre un 16-30% de los casos (6), (12), (13), (14). El motivo de que las formas familiares no sean más frecuentes se debe a que la penetrancia de la enfermedad es del 50%. Además, el diagnóstico de SHUa esporádico no es permanente porque el momento de la presentación de la enfermedad varía entre los miembros de la misma familia. El consejo genético no es fácil porque no se puede eliminar el riesgo de enfermedad en un familiar con la misma mutación de su probando en base a la presencia o ausencia de haplotipos de riesgo conocidos y porque puede haber otros factores genéticos u otros polimorfismos no identificados en los sujetos emparentados relevantes para provocar la enfermedad (2).

La enfermedad puede manifestarse en cualquier edad (2). Para algunos es más frecuente en los pacientes pediátricos/adolescentes, excepto en portadores de mutaciones en CFI o C3 (12)), mientras que para otros sería más frecuente en adultos(6). A pesar de que el conocimiento de la frecuencia relativa de la enfermedad en pacientes pediátricos/adolescentes y en adultos es imprescindible para una correcta planificación sanitaria, su estudio se ha hecho de forma poco robusta desde el punto de vista epidemiológico. De hecho, ninguno de los estudios mencionados hace referencia a la población específica en riesgo, sino que estiman sus datos en relación a la población total (5-8), (12).

INTRODUCCIÓN

La frecuencia relativa de SHUa en mujeres y varones también es controvertida. Algunos autores encuentran que la frecuencia por sexo es similar en la población pediátrica (13), mientras que otros afirman que hay una ligera mayor prevalencia de mujeres en la edad adulta descontando el efecto del embarazo como factor desencadenante (6), (13). En las series publicadas se proporciona la prevalencia inicial de sexos en las características basales de la población en estudio, pero no la incidencia relativa al número de mujeres y varones en riesgo en la población de referencia. Tampoco se analizan las diferencias en las formas de presentación de la enfermedad, ni su severidad ni en función del sexo. Los únicos estudios específicos en mujeres con SHUa se han realizado en relación con el embarazo (15-18).

El SHUa suele presentarse, abruptamente, como evento único o como una recidiva asociado a un episodio desencadenante como infección, embarazo o exposición a drogas. Sin embargo, se han publicado casos en los cuales los pacientes evolucionan sin anemia ni trombocitopenia pero con proteinuria, hipertensión y deterioro progresivo de la función renal (2), (19). Esta forma de presentación puede cambiar los conceptos epidemiológicos y clínicos sobre la enfermedad y modificar los criterios de indicación de biopsia renal en las nefropatías en evolución (20).

Los factores desencadenantes más frecuentes son las infecciones, sobre todos las de vías respiratorias superiores y las gastroenteritis. Se ha sugerido que algunas mutaciones en el complemento podrían explicar la mayor susceptibilidad a las infecciones en estos pacientes (21). En las mujeres el embarazo, sobre todo en la fase postparto, es un antecedente frecuente(12), (15), (17), (18). En ocasiones, es difícil distinguir si las manifestaciones gastrointestinales se corresponden a una infección desencadenante o son la consecuencia de afectación endotelial secundaria a MAT. En el primer caso las manifestaciones gastrointestinales anteceden a la enfermedad y en el segundo se manifestarían a la vez que el resto de alteraciones renales o extra renales.

Las manifestaciones extrarenales dependen del territorio vascular afectado (22). Son frecuentes las neurológicas que incluyen irritabilidad, confusión, trastornos motores, convulsiones y coma. También son frecuentes las náuseas, los vómitos y la diarrea, y se han descrito casos con hepatitis, pancreatitis y hemorragia intestinal. Las manifestaciones cardíacas consisten en enfermedad coronaria con infarto, muerte súbita, cardiomiopatía dilatada y estenosis y trombosis de vasos de mediano calibre en fases tardías de la evolución(6), (12), (19). También se han descrito casos con afectación pulmonar (19) o cutánea (23).

La anemia hemolítica y la trombocitopenia son las principales manifestaciones hematológicas del SHUa. La anemia puede ser severa y los pacientes pueden requerir soporte transfusional. Las cifras de plaquetas se mantienen entre 30000-50000/mm³. La trasfusión de plaquetas no está indicada excepto en episodios de sangrado, o por necesidad de procedimientos quirúrgicos, porque puede incrementar su depósito endotelial. Algunos autores han encontrado en pacientes tratados con eculizumab, una relación entre el incremento en los valores plasmáticos de LDH y el descenso en los valores de hemoglobina inicial con un mejor pronóstico renal del SHUa (24).

La afectación renal suele ser severa o muy severa sobre todo en los pacientes adultos y muchos pacientes, con una frecuencia que oscila entre 40% y 81% según las series, requieren de diálisis como tratamiento substitutivo (6) (12) (24) (25). La hipertensión arterial y la proteinuria son frecuentes. La hipertensión arterial es secundaria a hiperreninemia y a sobrecarga de volumen, y la proteinuria es un marcador de daño glomerular. Sin embargo, a pesar de su frecuencia, de su interés como marcadores de actividad de la enfermedad renal y de ser marcadores independientes de riesgo cardiovascular no han sido objeto de un escrutinio tan riguroso como la creatinina plasmática o el filtrado glomerular estimado (eGFR)

2.3 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: BASES CLÍNICAS, GENÉTICAS Y MOLECULARES

El SHUa es un diagnóstico de exclusión y adquiere carácter independiente después de un proceso inacabado de depuración clínica y de avances en el conocimiento de los mecanismos genéticos y moleculares de cada una de las microangiopatías trombóticas. Por eso, se han propuesto diferentes clasificaciones del síndrome hemolítico urémico para proporcionar algoritmos diagnósticos y terapéuticos adecuados(26-31) (Figuras 2, 3 y 4).

INTRODUCCIÓN

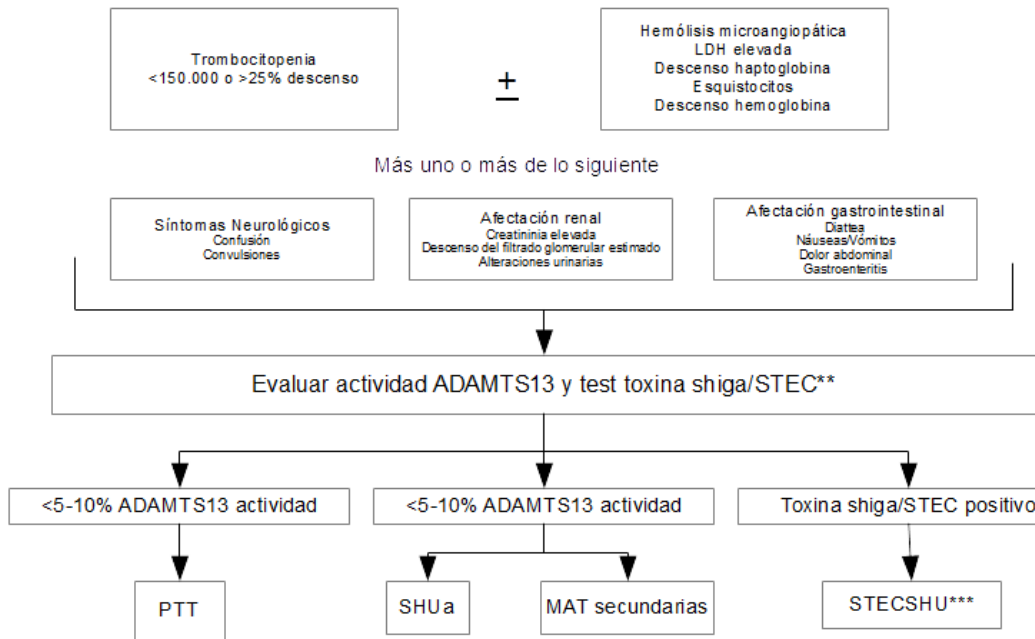


Figura 2: Algoritmo de diagnóstico diferencial propuesto por el grupo de trabajo de la SEN, documento de consenso, Nefrología 2.015

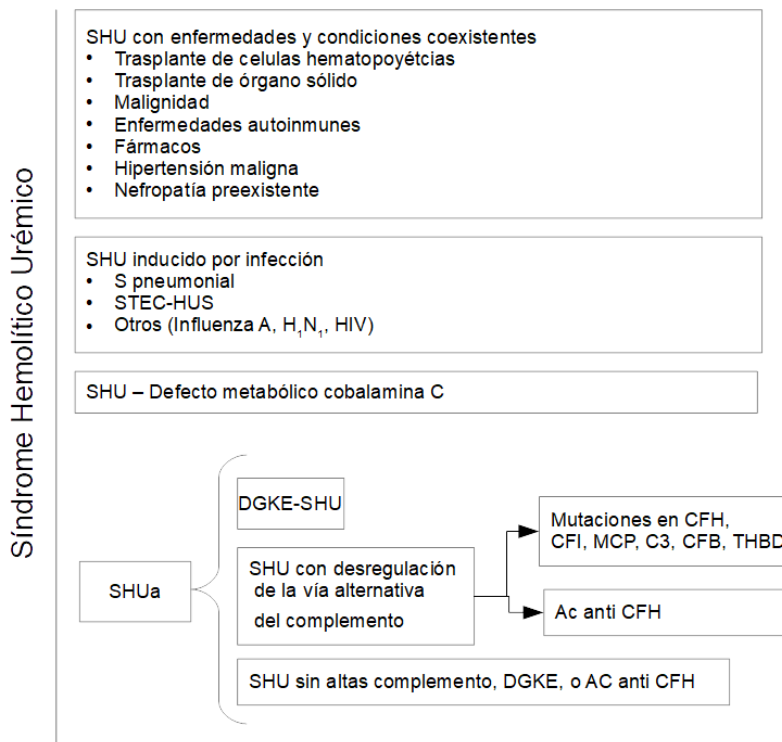


Figura 3: Clasificación propuesta por Fakhouri y colaboradores, Lancet 2.017

INTRODUCCIÓN

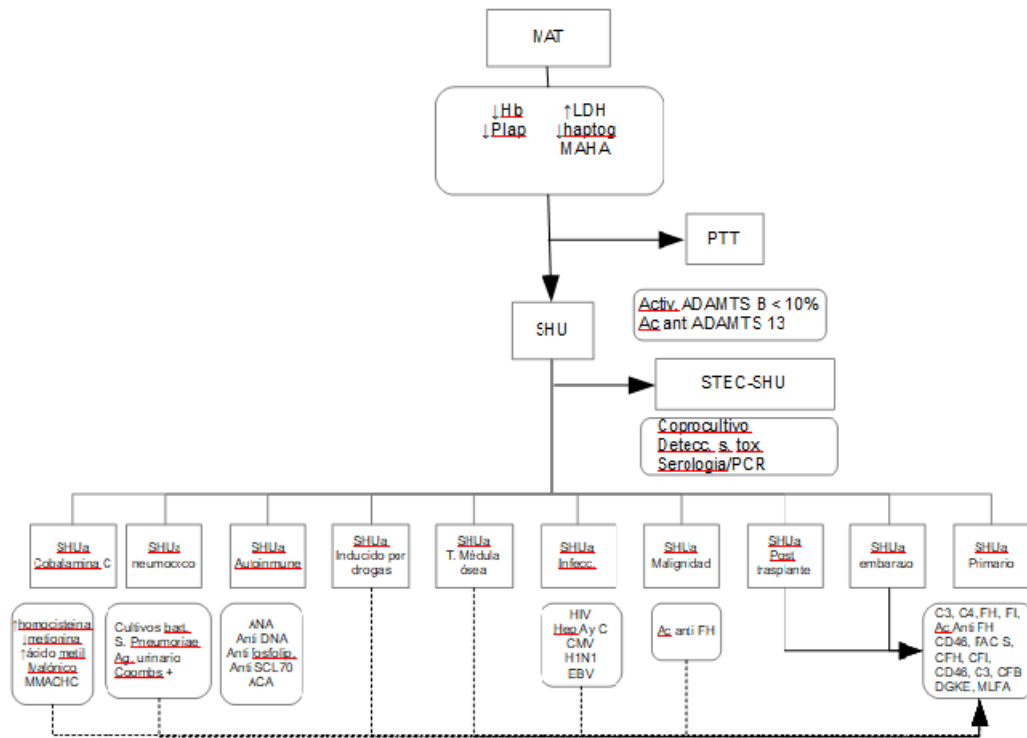


Figura 4: Algoritmo diagnóstico de SHUa propuesto por el grupo de estudio de KDIGO, Goodship y colaboradores Kidney Int. 2.017

En el servicio de nefrología del CHUAC, estamos trabajando un algoritmo diagnóstico propio, elaborado en colaboración con la Facultad de Informática de la Universidad de A Coruña (32).

Las entidades clínicas que se han segregado del conjunto de las microangiopatías trombóticas son: la púrpura trombocitopénica trombótica; el síndrome hemolítico urémico “típico” secundario a infección por *Escherichia. Coli*, *Shigella dysenteriae* o por *Streptococcus pneumoniae*; el generado por defectos en el metabolismo de la cianocobalamina; el secundario a la alteración de la proteína DGKE de la coagulación y el que se manifiesta tras la exposición a algunas drogas o en el contexto de otras enfermedades que cursan con daño endotelial (3), (29).

Moscovitch, en 1924 describió la primera microangiopatía trombótica, probablemente una púrpura trombocitopénica trombótica, en una mujer de 16 años que ingresó en un hospital de Nueva York con un cuadro de debilidad generalizada, palidez, purpura y hemiparesia. La paciente falleció a los 14 días por fallo cardíaco, y su autopsia

INTRODUCCIÓN

evidenció la presencia de trombos hialinos en arteriolas terminales y capilares en múltiples órganos y en el riñón (33). Hoy se sabe que la PTT es secundaria a un déficit de ADAMTS13, una enzima que rompe los multímeros del factor Von Willebrand secretados por el endotelio vascular. La enfermedad se presenta en forma adquirida por la acción de autoanticuerpos que inhiben la actividad de ADAMTS13 (34-36) o, con menor frecuencia, de forma congénita en portadores de una mutación en homocigosis o heterocigosis compuesta, del gen codificador de ADAMTS13 (enfermedad de Upshaw-Schulman) (37).

El término de SHU aparece por primera vez en 1955 en una publicación que describe cinco casos de pacientes pediátricos con sospecha no confirmada de infección gastrointestinal que cursaban con anemia hemolítica microangiopática y necrosis cortical renal (38). En 1962 se aplica este término a cinco casos de pacientes pediátricos con un cuadro de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal precedido de diarrea (39). En 1983 se describe la asociación de síndrome hemolítico urémico con infección por *Escherichia Coli* (40). Ese mismo año se demostró que *Escherichia Coli* con el serotipo O 157:H7, productor de la toxina shiga, era el agente causal de un brote de colitis hemorrágica (41). Posteriormente, se han encontrado otros serotipos patógenos como O26 ;O111 ;O121 ;O145;O91;O103;O104;O81 tan frecuentes como O157 en Europa (42), (43) y EE UU (44), mientras que O157 permanece como el más frecuente en Latinoamérica (45-46).

Esta forma de síndrome hemolítico urémico –STEC-SHU– aparece después del consumo de alimentos contaminados y cursa con diarrea, a menudo sanguinolenta, y la anemia y trombocitopenia aparecen cuando el cuadro diarreico ha cesado (47). La toxina shiga provoca lesión endotelial por dos mecanismos: en primer lugar porque al unirse al receptor globotriaosil ceramida (GB3) de la célula se internaliza e induce la inactivación de los ribosomas y apoptosis celular (48); en segundo lugar, porque tiene actividad protrombótica al activar la secreción celular de factor de Von Willebrand (49).

En ocasiones, la infección por *Streptococo pneumoniae* o por el virus de la gripe A H1N1 producen neuraminidasa, que al exponer el antígeno oculto de Thomsen-Friedenreich en las plaquetas y en las células endoteliales, genera anticuerpos frente a ese antígeno y provoca otra forma infecciosa, mediada inmunológicamente, de síndrome hemolítico urémico con un test de Coombs falsamente positivo (50-52). Además, el *Streptococo pneumoniae* es capaz de adherirse al plasminógeno y activarlo a plasmina provocando la retracción endotelial y la exposición de la matriz mesangial (53)

En 1992 se describe por primera vez en dos estudios independientes una forma de síndrome hemolítico urémico en pacientes pediátricos asociado a un trastorno en la vitamina B12. El déficit de cobalamina C secundario a una mutación en homocigosis o en heterocigosis compuesta en el gen *MMACHC* disminuye los valores de metionina e incrementa los de homocisteína provocando disfunción endotelial, activación de las plaquetas, expresión de factor tisular y activación del sistema de coagulación (54), (55). La descripción de varios casos en pacientes adultos desde el primer caso publicado en 2014 (56-61) obliga a incluir a los pacientes de este grupo de edad con hiperhomocistinemia en el diagnóstico diferencial del SHUa (62).

En 2013 se publican dos estudios describiendo una forma de SHUa en niños ocasionado por una mutación en homocigosis o heterocigosis compuesta en el gen codificador de la proteína diacilglicerol quinasa Σ (DGKE) (63-64). La pérdida de función de DGKE incrementa la producción de protein-quinasa C (PKC) provocando la microangiopatía al activar la producción de factor de Von Willebrand, de factor tisular y de inhibidor 1 del activador del plasminógeno; y al inhibir la del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (65-67).

Las microangiopatías inducidas por drogas se deben o a una reacción inmunológica mediada por anticuerpos como en el caso de la quinina (68), quetiapina (69) o gemcitabina (70-72) o a toxicidad dependiente de dosis como en el caso de los anticalcineurínicos (73), (74) o de los inhibidores del VEGF (75-77).

El SHUa se presenta en el contexto de otras entidades como la hipertensión maligna (78-80), las enfermedades autoinmunes (8), (81), (82-84), las infecciones incluyendo la infección por *E. Coli* no productor de toxina shiga (85), las neoplasias (86) y los trasplantes de órganos sólidos y hematopoyéticos (87) (88). En esas circunstancias el SHUa se define como secundario (8) (89).

2.4 MECANISMOS PATOGENICOS: EL PAPEL DEL COMPLEMENTO

Desde 1975 se conocía una forma familiar de SHUa (90). Sin embargo, no fue hasta 1998 cuando se realizaron estudios genéticos que atribuyeron a mutaciones en CFH la causa de este síndrome (91). Desde entonces se han descrito nuevas mutaciones en los genes codificadores de las proteínas de la vía alternativa del complemento asociadas a esta forma específica de microangiopatía trombótica (1) (92). La penetrancia de la enfermedad es del 50%, se incrementa si hay más de una mutación (93) o si coexiste con determinados

INTRODUCCIÓN

polimorfismos en CFH, en MCP o en CFHR1*B. El denominado polimorfismo de riesgo en CFH (H3) radica en cuatro cambios de un único nucleótido localizados en los CCP 1, 7, 11 y 16. El polimorfismo de riesgo en MCP consiste en cinco cambios en un único nucleótido en el promotor y en la región intrónica (MCPgggac) (14), (92), (94-97). El polimorfismo de riesgo CFHR1*B ha sido identificado como tal en la cohorte española y se asocia en forma de haplotipo expandido con CFH (H3) y CFHR3*B (14)

El complemento podría estar implicado en algunos casos de STEC-SHU porque la toxina shiga puede fijarse a FH interfiriendo con su función reguladora (98), (99) y activar la vía alternativa del complemento. Además, se ha observado que algunos pacientes con SHU-STEC cursan con valores plasmáticos elevados de Bb y C5b-9 (98), (100), (101). La comunicación de un caso de infección por *Escherichia Coli* productora de toxina shiga en una paciente de 18 meses con una mutación en CFH predice que la conexión entre ambas circunstancias podría ser reportada con más frecuencia en el futuro (102). También es interesante el hallazgo de una disminución temporal en la expresión de MCP observada en pacientes con SHU por toxina shiga, aunque los autores no relacionan este fenómeno con la toxina sino con el daño inducido por el factor hem, (103), un efecto ya comunicado previamente por el mismo grupo en pacientes con SHUa (104) y que, además, como se ha sugerido recientemente, es responsable de activar la vía alternativa del complemento en los procesos de hemolisis intravascular (105).

El complemento podría jugar un papel en el SHUa asociado a mutaciones en diacilglicerol quinasa Σ (DGKE) porque se han encontrado casos en los que coexisten mutaciones en este gen y en C3 o trombomodulina (106) y se ha descrito en una familia consanguínea una mutación en DGKE asociada a consumo de C3 (65). Tampoco se conoce el alcance que puede tener el hallazgo de un estudio en el que la mitad de los pacientes con SHUa compartían mutaciones en el complemento y en genes del sistema de coagulación, principalmente, de plasminógeno (107).

El complemento puede jugar también un papel en algunas de las microangiopatías trombóticas, hasta ahora consideradas secundarias, tal y como hemos descrito nosotros por primera vez, en un paciente incluido en esta cohorte, portador de una variante en CFHR1 que presentó un SHUa asociado a una vasculitis con eosinofilia (108). No obstante, la creencia de que las alteraciones en los genes codificadores de las proteínas de la vía alternativa del complemento puedan ser un factor relevante en las microangiopatías secundarias se ha cuestionado en un estudio reciente en el que, tras analizar 110 pacientes con SHUa secundario diagnosticados entre 1999 y 2017, se concluye que la frecuencia de variantes raras (frecuencia alélica <0,1%) en los genes codificadores del complemento no

fue diferente en los pacientes con SHUa secundario (5%) y en los controles sanos (8%)(89)

2.4.1 Vía alternativa del complemento

A diferencia de las vías clásica y la de las lectinas, la vía alternativa del complemento está activa de forma permanente y ralentizada (tickover). Esta activación se produce por hidrólisis espontánea y ruptura de C3 y tiene como función detectar material extraño o propio dañado o no (109). El complejo C3(H₂O) tiene propiedades parecidas a C3b, cambia su forma y se hace accesible a la incorporación de factor B para que se fragmente en Bb y Ba por la acción de factor D. El complejo resultante C3(H₂O)Bb es una convertasa plasmática de C3 que lo fragmenta en C3a y C3b. La mayor parte de ese C3b se inactiva por hidrólisis mientras el resto de las moléculas se unen mediante grupos tioéster reactivos a las superficies celulares del huésped o de un agente patógeno. El C3b fijado a las superficies celulares o bacterianas también se fija a factor B, que se fragmenta en Bb y Ba en presencia de factor D, para crear la convertasa C3bBb de la vía alternativa en fase tisular que se estabiliza sobre la superficie de los patógenos o de las células del huésped con la ayuda de properdina o factor P (110). Recientemente, se ha sugerido un papel de la properdina en el SHUa porque su delección en ratones con mutaciones en CFH previene la aparición de la enfermedad en éstos animales (111).

La unión de C3b a las convertasas de C3 genera las convertasas de C5: (C3b)₂Bb de la vía alternativa que rompen C5 en C5a y C5b. C5a es un mediador muy potente de la respuesta inflamatoria y C5b inicia la vía terminal de activación del complemento con la polimerización de sus componentes finales para formar C5b-9 que es el complejo de ataque de membrana. Este complejo de ataque de la membrana se inserta en el interior del agente patógeno o de las células del huésped permitiendo el paso de solutos y agua, la pérdida del gradiente de protones y la penetración de enzimas al interior celular. De esta forma se procede a la destrucción de los agentes patógenos etiquetados previamente por C3b o de las células propias si carecen de proteínas reguladoras de la actividad de la vía alternativa del complemento (112), (113), (114), (115) (Fig. 5).

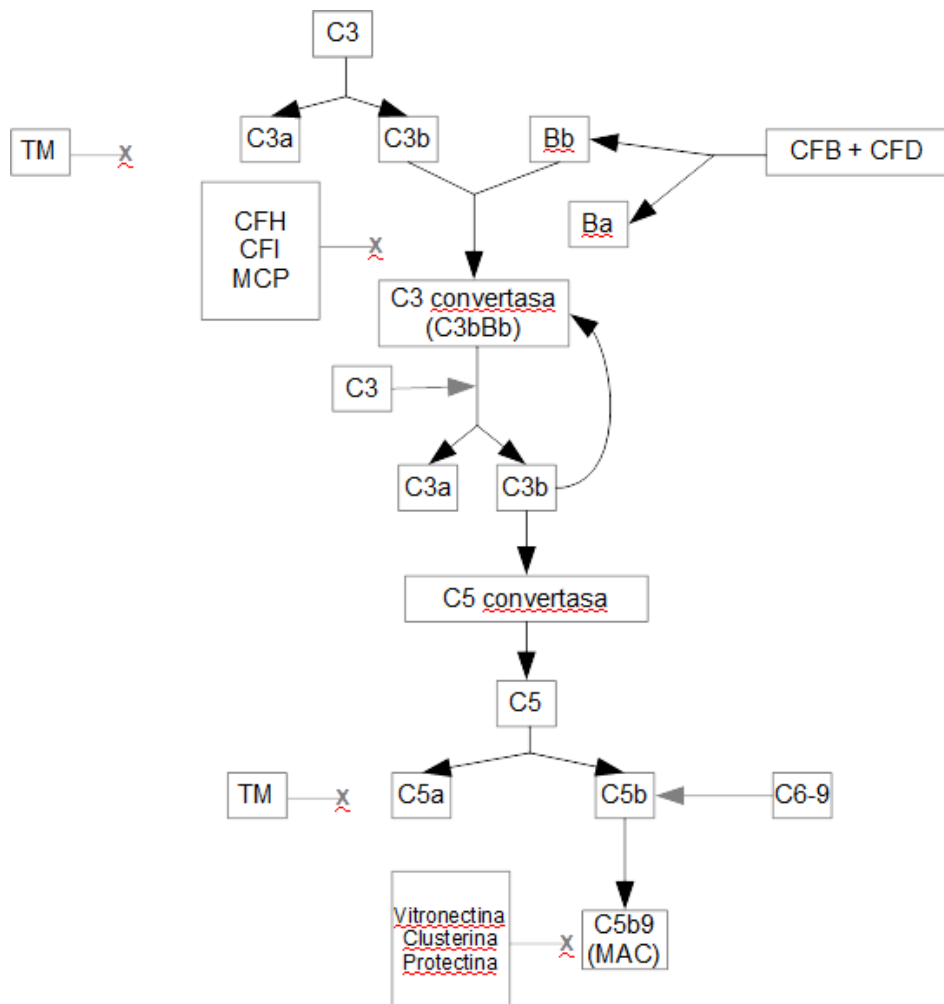


Figura 5: La vía alternativa del complemento

2.4.2 Proteínas reguladoras de la actividad de la vía alternativa del complemento

Las proteínas reguladoras de la actividad de la vía alternativa del complemento son el sistema de salvaguarda que ha proporcionado la evolución para evitar una activación no controlada o inapropiada del complemento. Actúan en la fase soluble o en la tisular y se codifican por genes RCA situados en un clúster en la región 1q32 del cromosoma 1 (91). Estas proteínas comparten unos dominios con estructura en “sandwich” beta y unión por puentes disulfuro CCP o SCR que se fijan a C3b (116) y lo convierten en iC3b/iC3dg que son moléculas inactivas incapaces de formar convertasas. Además, amplifican el mecanismo interno de destrucción DAA de las convertasas que se forman en la fase plasmática y en la tisular (117).

Las proteínas reguladoras solubles tienen dominios que reconocen y se fijan a las moléculas de C3b en el plasma y en la fase tisular mientras que las reguladoras de membrana restringen su acción en función del tejido en el que se expresan, y aunque algunos de sus dominios externos pueden encontrarse en forma soluble en concentraciones bajas tienen una acción escasa sobre el control del complemento en la fase plasmática (117). Además, la capacidad de las proteínas reguladoras solubles para fijarse a membranas basales ricas en proteoglicanos situadas entre las células endoteliales fenestradas pueden explicar el relieve de la afectación renal en el SHUa (117), (118).

El principal acelerador soluble del decaimiento de las convertasas es el factor I, una glicoproteína serinproteasa soluble de 63Kd producida en el hígado, que consta de dos cadenas polipeptídicas y que circula en forma inactiva por acción de la cadena más pesada (119). La unión de FI a su sustrato C3b en colaboración con un cofactor le confiere su actividad proteolítica serinproteasa convirtiendo C3b en iC3b que carece de capacidad para formar parte del complejo de las convertasas.

El resto de proteínas reguladoras, tanto las solubles como las insertadas en las membranas celulares, son cofactores de factor I. Las proteínas reguladoras solubles son FH y las proteínas relacionadas con FH (FHR1-5). Las reguladoras de membrana son MCP o CD46, trombomodulina y DAF. Además, la vía de activación final de formación del complejo de ataque de membrana está regulada por vitronectina, clusterina y protectina.

Factor H (FH) participa en la disociación de las convertasas en la fase plasmática y en la fase tisular. Tiene 20 dominios CCP y dos terminales: uno con un grupo amino cuyos primeros cuatro dominios tienen la capacidad para acelerar la actividad de decaimiento (DAA) y actuar de cofactor de factor I en la fase plasmática. El otro terminal tiene un grupo carboxílico con dos dominios, CCP 19 y CCP 20, que junto con los dominios CCP 6 y CCP 7,

INTRODUCCIÓN

se fijan a las superficies ricas en ácido siálico y glucosaminoglucanos de las células del huésped (120). Además de FH existe una variante parecida: FHL-1, también producto del gen CFH, pero que circula en cantidades mucho menores que FH. FHL-1 es similar a FH con los mismos primeros dominios CCP y solo tiene cuatro aminoácidos en la región carboxiterminal, por consiguiente, tiene capacidad reguladora en la fase plasmática y también, aunque algo más limitada para fijarse a las superficies a través de sus dominios CCP 6 y CCP 7 (117). Por añadidura, factor H compite con factor B para ligarse a los carbohidratos de las superficies tisulares. Mientras que FH desestructura a las convertasas, el factor B contribuye a su formación y estabilización. Del equilibrio entre ambos en su acción sobre las células del huésped depende su supervivencia o su destrucción por el sistema del complemento.

Las proteínas relacionadas con factor H (CFHR1-5) se codifican por genes muy próximos al de CFH lo que explica las posibles hibridaciones entre ambos (121) . Estas proteínas tienen entre cuatro y nueve módulos CCP homólogos a los de la región C terminal de CFH y por ello con capacidad para unirse a superficies desplazando a factor H e impidiendo así su función reguladora (121) (122) (123).

MCP o CD46 está compuesta por cuatro módulos CCP y un tallo rico en serina, treonina y prolina. Estructuralmente tiene un dominio externo , una parte intramembranosa y otra en el citosol y actúa como reguladora del complemento como cofactor de factor I para degradar C3b y C4b. Recientemente, se ha revisado su papel como mediador en la inmunidad adaptativa ya que se ha visto que células CD4⁺ estimuladas con C3b o C4b en presencia de MCP inducen un fenotipo Th1 autoregulador y restaurador de la homeostasis inmunológica (124) (Fig. 6).

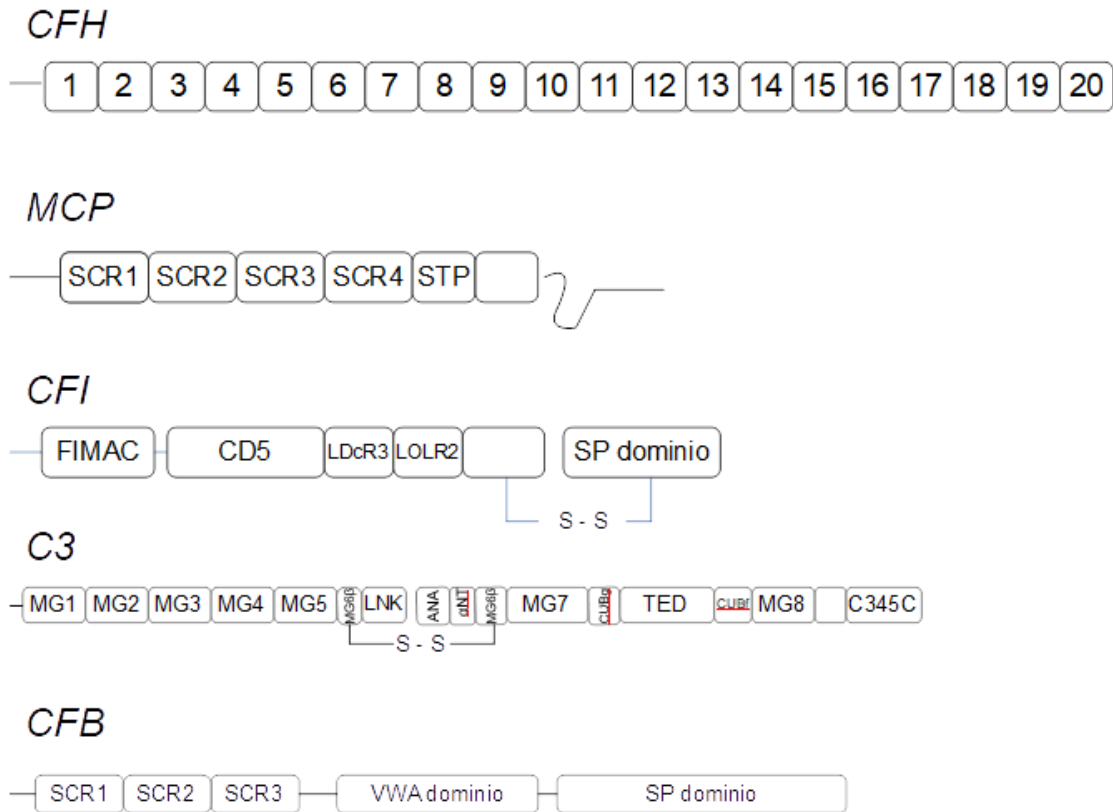


Figura 6: Factores reguladores del complemento

Trombomodulina (THMD) es una glicoproteína sintetizada por las células endoteliales que juega un papel en la coagulación a través de su unión a trombina. Está codificada por un gen situado en el brazo corto del cromosoma 20 (20p12) (125). Las mutaciones en el gen de la trombomodulina producen SHUa porque la proteína es capaz de fijarse a C3b y a factor H facilitando la acción de factor I. Además trombomodulina regula la vía de las anafilotoxinas acelerando la inactivación de C3a y C5a por las carboxipeptidasas (126).

DAF es una proteína de 74 Kd con cuatro módulos CCP y un tallo rico en serina y treonina que se fija a la membrana a través de fosfoinositol glicolípido. Actúa como molécula anti adhesiva dificultando la trans migración de los neutrófilos a través de las mucosas epiteliales (127). Sin embargo, aunque se expresa en células endoteliales no se ha publicado ningún caso hasta la fecha de pacientes con SHUa ligados a alteraciones en esta proteína reguladora.

2.4.3 Proteínas reguladoras de la actividad de la vía final del complemento

La vía final del complemento está regulada por tres proteínas: vitronectina, clusterina (128) y, sobre todo, por protectina (CD59).

Vitronectina se produce en el hígado y se encuentra en forma circulante y en muchos tejidos (129) (130). Su acción reguladora depende de su unión a C5b-7 a C5b-8 y a C5b-9 impidiendo su polimerización para constituir el complejo de ataque de membrana (112) (131). Recientemente, en un estudio de 400 pacientes con SHUa en los que analizaron 93 genes del complemento y de la coagulación se encontró por primera vez una mutación del gen codificador de la vitronectina presente en ocho pacientes con SHUa, aunque los autores siguieron que esta mutación puede ser más un factor predisponente que causal (132).

Por su parte, Clusterina que tiene una masa molecular de 60-70 Kd, actúa sobre C5b-7, C5b-8 y de C5b-9 antes de que se incorporen a la bicapa lipídica celular (128) (133).

Protectina o CD59 es el principal regulador de la vía terminal del complemento sobre las superficies celulares. Es una glicoproteína de 20 Kd enlazada a la membrana mediante un dominio glucofosfatidil inositol y puede tener una pequeña fracción soluble (134) (135) (136). Su acción reguladora depende de su adherencia C8 y a C9 dentro de los complejos C5b-8 y C5b-9 impidiendo su polimerización (117). Un déficit de Protectina por una mutación en homocigosis de su gen codificador es el causante de la hemoglobinuria paroxística nocturna (135) (137).

2.5 MUTACIONES GENÉTICAS Y ALTERACIONES ADQUIRIDAS DE LAS PROTEÍNAS REGULADORAS DEL COMPLEMENTO EN EL SHUA

En el SHUa las mutaciones genéticas se traducen bien en pérdida de función de las proteínas reguladoras plasmáticas CFH (91) y CFI (138) o de membrana MCP (139) (140) trombomodulina (126), o bien en ganancia de función de las proteínas constituyentes de C3bBb como C3 (141, 142) y CFB (143) (141). Desde el punto de vista genético-funcional los cambios en el ADN consisten en variantes nonsense, missense, deleciones y realineamientos complejos (144).

Las mutaciones más frecuentes en Europa y en EE UU ocurren en CFH (20-30%) , en MCP (10-15%), en CFI, (4-10%), en C3 (2-10%), en THBD (3-4%) y en CFB (1-4%) (145) (12) (6) (92). En Japón las cifras son diferentes con un porcentaje menor de las mutaciones

INTRODUCCIÓN

en CFH (10%), mayor frecuencia en C3 (31%) y ausencia de casos reportados mutaciones en CFI (25) (146). Algunos pacientes con SHUa son portadores de genes híbridos entre el de CFH y los de proteínas relacionadas con el complemento (CFHR1-5) (147) (148) (149) o presentan reordenamientos genéticos entre estas proteínas CFHR1-5(149) (Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencia de mutaciones en los factores reguladores del complemento, según localización geográfica

	M. Noris (12) Registro Internacional	Fremeaux-Bacchi (6) Francia	M. Fujisawa (25) Japón	M. Bernabeu (14) España
<i>CFH</i>	24 %	20-30 %	10 %	13,35%
<i>CFI</i>	4 %	4-10 %	-	5,34%
<i>MCP</i>	7 %	5-15 %	5 %	6,85%
<i>C3</i>	4 %	2-10 %	31 %	2,68%
<i>CFB</i>	-	1-4 %	-	1,48%
<i>THBD</i>	5 %	3-5 %	-	3,52%
<i>Combinadas</i>	3 %	2 %	5 %	3,27%
<i>Ac. Anti FH</i>	-	6-10 %	19 %	

La forma adquirida de SHUa ligado al complemento es más frecuente en los pacientes pediátricos (25-50%) que en los adultos (5-10%) y se debe a la acción de anticuerpos anti CFH (150) (96) (151) . Con frecuencia, los anticuerpos se asocian a deleciones homocigóticas en el gen de CFHR1, CFHR-3 y CFHR4 y se han descrito coexistiendo con mutaciones en CFH, CFI, MCP, CFB o C3 (152) (122).

Las variantes en CFH asociadas al SHUa suelen ser heterocigóticas y se producen en los módulos CCP 19-20 afectando su capacidad para unirse a C3b sobre superficies ricas en ácido siálico sin producir necesariamente un déficit de la proteína (6) (12)(92)(153-155)(156)(157) (158) (159) .

Las deleciones en las proteínas CFHR1-5 y las recombinaciones de sus genes con el gen de CFH se asocian a SHUa . Las proteínas resultantes de estos genes híbridos antagonizan la función de CFH (147) (148, 160) (161) (149).

Las variantes patogénicas en el gen de CFI se producen en heterocigosis y se localizan en los exones que codifican el dominio proteínserasa con el resultado de disminuir

la secreción de la proteína o su actividad proteolítica en la fase plasmática o en la fase tisular (138) (162, 163).

La mayor parte de las variantes patogénicas en MCP asociadas a SHUa son en heterocigosis y se localizan en los cuatro módulos CCP extracelulares. Desde el punto de vista funcional la mayor parte de las veces comportan una menor expresión de la proteína y con menor frecuencia un déficit funcional en su capacidad para fijarse a C3b y actuar como cofactor (139) (140) (164).

Las variantes patogénicas en C3 suelen ser en heterocigosis y afectar a los lugares de unión con CFH o MCP impidiendo la acción de estas proteínas reguladoras (142) (165). Sin embargo, ha sido descrita una variante cuyo efecto es facilitar la unión de C3 a CFB produciendo una ganancia de función e hiperactividad de la C3 convertasa (144) (166) (167). El estudio de tres variantes en C3 encontradas en seis pacientes españoles, cinco de ellos pertenecientes a dos familias con miembros afectados, ha permitido comprobar que el mecanismo por el cual estas mutaciones impiden la actividad reguladora reside en la reducida interacción de C3b con MCP (165).

Las variantes en CFB son raras y producen un efecto de ganancia porque su producto, el factor B, acentúa la afinidad por C3 aumentando la actividad de la C3 convertasa o su resistencia a la acción de las proteínas reguladoras (141) además de incrementar el consumo de C3 disminuyendo sus valores plasmáticos. Los primeros casos de mutaciones en CFB productoras de SHUa fueron reportadas en 2007 en pacientes con SHUa pertenecientes a una familia española que mostraban una mutación del gen codificador en heterocigosis (143). En ese estudio se comprobó que la penetrancia de SHUa en esa familia dependía de la combinación de un haplotipo de riesgo en MCP descubierto previamente por el mismo grupo (94). Ese grupo también comprobó que otra mutación en heterocigosis en el gen codificador de CFB asociada con el haplotipo de riesgo en MCP no se expresaba como SHUa lo que nos remite a la complejidad de las alteraciones genéticas y a los distintos componentes que condicionan la expresión de esta enfermedad (143).

Los valores plasmáticos de las proteínas reguladoras solubles y la magnitud de la expresión de las reguladoras de membrana en los pacientes con SHUa portadores de variantes en los genes del complemento son variables, y pueden resultar de factores independientes de la hiperactividad de la vía alternativa del complemento. Más concretamente, se ha visto que los valores plasmáticos de factor H dependen de la edad y de la exposición al tabaco (168) de portar el haplotipo H3 aislado o expandido con el polimorfismo CFHR1 (169) y CFHR3 (c.721C>T)(14) o de la presencia de inmunocomplejos

con anticuerpos anti FH que limitan su disponibilidad plasmática (170). Por otra parte, la expresión de MCP puede disminuir de forma temporal después de la exposición a un agente inhibidor como la toxina shiga o en situaciones de hemólisis como se ha comentado previamente (103) (104) (105). En el caso de pacientes con mutaciones genéticas en CFH se ha visto que los niveles de FH disminuyen cuando la enfermedad se expresa como glomerulopatía C3 pero no cuando lo hace en forma de SHUa (171). Por otra parte, hay que tener en cuenta que en el SHUa la mayoría de las mutaciones en las proteínas reguladoras se heredan en heterocigosis lo que asegura una producción normal de la proteína por el alelo no mutado y que, además, los cambios en la proteína son missense y por tanto, es su función y no los valores plasmáticos los que se ven afectados por la mutación.

2.6 EVOLUCIÓN, PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO

La evolución y el pronóstico del SHUa dependen de la edad de presentación, del componente genético o adquirido subyacente, del tipo de factor desencadenante, de la precocidad y calidad de las medidas de soporte, cuando son necesarias, y de la precocidad y tipo de tratamiento de base. En relación con este último factor todos los resultados disponibles, de confirmarse, apuntan a que el tratamiento con el eculizumab, bloqueante de C5, y por tanto, de la vía terminal del complemento podría modificar definitivamente la evolución y el pronóstico de esta enfermedad.

Los resultados del grupo francés para el estudio del SHUa muestran un comportamiento diferente de la enfermedad, en la era pre eculizumab, entre los pacientes pediátricos/adolescentes y los adultos, con una mortalidad al año superior en los pacientes pediátricos (6,7% vs 0,8%) y una incidencia de insuficiencia renal terminal superior en los adultos (46% vs 16%)(6). Igualmente, los resultados observados en el registro internacional muestran una mayor mortalidad en los pacientes pediátricos que en los adultos (12% vs 2%)(12). Se necesita evaluar estos resultados en otras cohortes y analizar si se deben a un diferente comportamiento de la enfermedad según la edad de presentación o son consecuencia de una diferencia en las prácticas y en los recursos entre los servicios sanitarios pediátricos o de adultos.

Previamente al uso de eculizumab los pacientes se trataban con plasmaterapia, bien con infusión de plasma, bien con la combinación de infusión de plasma y plasmaféresis (172), (173). Los resultados obtenidos con plasmaterapia no han sido evaluados nunca por un ensayo clínico y no es posible descartar que el pobre pronóstico en cuanto a la recuperación de la función renal se puedan explicar por el retraso en su aplicación o por una dosificación insuficiente (6), (12), (19). Obviamente, los pacientes con mutaciones en

INTRODUCCIÓN

MCP no son beneficiarios de tratamiento con plasmaterapia (1), (145). Por su parte, solamente el 5% de los pacientes con mutaciones en CFH experimentan recuperación completa con plasmaterapia, mientras que el 63% permanecen con secuelas renales a pesar de obtener una recuperación hematológica total o parcial y 37% entran en insuficiencia renal terminal o fallecen(12). El pronóstico en los portadores de mutaciones en CFI es aún peor ya que el 75% fallecen o entran en programa de diálisis definitivamente. Las mutaciones en C3 tuvieron respuesta hematológica con secuelas renales en 57% de los casos y 43% entraron en diálisis o fallecieron, mientras que los portadores de mutaciones en trombomodulina presentaron recuperación hematológica en 88% de los casos y 13% fallecieron o entraron en diálisis definitivamente(12). Otras mutaciones como las que ocurren en CFB son más difíciles de estudiar debido al escaso número de pacientes referidos.

De esos estudios se deriva que, si bien la plasmaterapia puede ser efectiva para controlar los parámetros hematológicos de MAT, su efecto sobre la recuperación de la función renal es bastante menor. Resultados similares han sido proporcionados por el grupo francés de SHUa ya que de su análisis se concluye que los portadores de variantes en CFH tienen un peor pronóstico renal que el resto, con independencia de la edad de comienzo de la enfermedad, y que los pacientes adultos con variantes en MCP o no identificadas tienen peor pronóstico renal que los pacientes pediátricos/adolescentes con el mismo trasfondo genético(6).

La tasa de recidivas en los pacientes que no pierden la función renal completamente ha sido estimada en un 30% al año en total, pero desagregada por edad y por el componente genético afectado, se ha comprobado que la recidiva se produce hasta en el 95% de los pacientes pediátricos/adolescentes con mutaciones en MCP y que oscila entre 10-50% en el resto (6).

El uso de eculizumab modifica el pronóstico de los pacientes con SHUa relacionado con el complemento. Eculizumab es un anticuerpo IgG4/2 Kappa monoclonal humanizado con alta afinidad por C5 (174). En adultos, a dosis de 900 mg IV semanales durante cuatro semanas y de 1200 mg IV bisemanales a partir de la quinta semana, bloquea la producción de C5a y de C5b9 (174) (175). Eculizumab fue aprobado por la FDA y la EMEA en 2011 en base a los resultados obtenidos en dos estudios observacionales, prospectivos y abiertos con 26 semanas de seguimiento y con 37 pacientes mayores de 12 años con SHUa como manifestación inicial o por recidiva en el trasplante. En uno de los grupos se analizaron 17 pacientes con SHUa en evolución (mediana de 9,7 meses de evolución) y refractarios a plasmaterapia; el otro grupo estaba constituido 20 pacientes con microangiopatía

INTRODUCCIÓN

trombótica de larga evolución (mediana de 48 meses de evolución) con daño renal crónico y dependientes de plasmaterapia. Los resultados a un plazo de 64 y 62 semanas se publicaron posteriormente (176).

En los dos grupos los objetivos primarios se establecieron con parámetros hematológicos, mientras que el impacto de eculizumab sobre la función renal fue un objetivo secundario. Los dos grupos tuvieron dos objetivos primarios diferentes para cada uno de ellos: la inhibición de la actividad de la MAT, definida como un cambio incremental en el número de plaquetas (grupo primero) y el estado libre de MAT definido como no descenso de las plaquetas superior al 25%, ausencia de plasmaféresis y diálisis (en el segundo grupo). El otro objetivo primario común para ambos grupos fue la normalización hematológica (normalización sostenida durante cuatro semanas de las cifras de plaquetas y LDH). En el primer grupo la normalización de las plaquetas se consiguió en el 53% de los pacientes al séptimo día de tratamiento con eculizumab y los 13 pacientes restantes con trombocitopenia inicial lo consiguieron a las 26 y 64 semanas, mientras que en el grupo de la MAT crónica esa recuperación se produjo en el 80% y 85% a las 26 y 64 semanas, respectivamente. La normalización hematológica se alcanzó en el 88% y en el 90% de los pacientes en el primero y segundo grupo, respectivamente. Estos resultados se alcanzaron con independencia de la presencia o no de variantes en genes codificadores de proteínas de la vía alternativa del complemento o de la presencia o no de anticuerpos anti factor H.

La medida de la función renal fue un objetivo secundario en ambos estudios. La mediana de creatinina inicial en el grupo primero fue de 2,9 mg/dl (rango= 1,4-8,9 mg/dl) y en el grupo segundo de 2,64 mg/dl (rango=1,2-10,1 mg/dl). En ambos grupos se encontró un incremento del eGFR, que fue muy superior en el primer grupo respecto al segundo (32 ml/min/1,70m² vs 2,9 ml/min/1,70m², respectivamente). Además, cuatro de los cinco pacientes que precisaron diálisis en el primer grupo pudieron salir de ella (80%). En ambos grupos se observó que la precocidad en el inicio de tratamiento con eculizumab mejoraba los logros en la recuperación de la función renal.

Posteriormente a esos estudios seminales se han realizado otros cinco: cuatro para valorar la eficacia y seguridad de eculizumab en pacientes con SHUa (177-180) y un estudio post-hoc (24). Además, se ha hecho un análisis con los resultados obtenidos en todos ellos, en 2019, (181). Este último es el mayor observacional prospectivo multicéntrico publicado y analiza a 93 pacientes con SHUa tratados con eculizumab ininterrumpidamente (51 pacientes), con interrupción temporal (21 pacientes) o con interrupción definitiva (21 pacientes). Los resultados del estudio pueden considerarse como de medio-largo plazo ya que el seguimiento fue de 65,7 meses. Durante todo el periodo de seguimiento se presentó

INTRODUCCIÓN

recidiva de MAT en el 2% de los pacientes en tratamiento con eculizumab y en 20% en los que estaban fuera de tratamiento por interrupción temporal o definitiva en los 30 primeros meses después de la interrupción. Al estratificar estos resultados se comprobó que la tasa de recidiva fue superior en los pacientes pediátricos, en los portadores de mutaciones o de anticuerpos anti factor H y en los pacientes con recidivas previas. No hubo recidiva en los pacientes trasplantados sin variantes con independencia del estatus respecto al tratamiento interrumpido o no de eculizumab.

En todos esos estudios, como se comentó previamente, la evolución de la función renal, medida por el filtrado glomerular estimado (eGFR), fue un objetivo secundario. En el último análisis se proporcionan los cambios en el eGFR basales y al final del seguimiento en los pacientes que no interrumpieron el tratamiento, en los que lo hicieron temporalmente y en los que lo dejaron definitivamente. Sin embargo, no se proporciona la magnitud del efecto del tratamiento con eculizumab en cuanto a la recuperación íntegra de la función renal, que es un dato de gran relevancia clínica imprescindible para averiguar cuantos pacientes sería necesario tratar para evitar una entrada en diálisis definitiva. Precisamente, evitar esta carencia es uno de los objetivos de este estudio, cuyos resultados preliminares centrados en el tratamiento de eculizumab en pacientes adultos con fracaso renal agudo sugieren que su efecto puede modificar el pronóstico renal al conseguir una efectividad en la recuperación íntegra de la función renal en el 100% de los pacientes con SHUa de comienzo abrupto y con fracaso renal agudo (182).

Eculizumab también parece haber modificado el pronóstico del trasplante renal de los pacientes con SHUa. El principal problema en la era pre-eculizumab era la alta tasa de recidiva y de trombosis del injerto condicionada por la exposición a factores desencadenantes como la isquemia-reperfusión y el uso de anticalcineurínicos como tratamiento inmunosupresor (183, 184) . Esta alta tasa de recidivas condicionaba a su vez altas tasas de pérdida de los injertos hasta el punto de que para muchos centros estos pacientes quedaban excluidos de la lista de espera para trasplante (9) o en su caso para el trasplante con donante vivo (184).

La frecuencia y los factores de riesgo de recidiva en el trasplante, en la era pre-eculizumab, fueron analizados en un estudio multicéntrico con 66 pacientes adultos del registro francés de SHUa procedentes de 21 centros y trasplantados entre 1996 y 2009 (184). El riesgo de recidiva y la pérdida del injerto se analizaron después de comparar su incidencia en los pacientes portadores de variantes en proteínas de la vía alternativa del complemento o con dos haplotipos de riesgo en CFH y MCP y en los pacientes que carecían de esas características que se usaron como controles. La mayor parte de los pacientes (68%)

INTRODUCCIÓN

experimentaron recidiva y la presencia de mutaciones se asoció a un riesgo relativo significativo de recidiva de 5,6; 4,8; 3,4; 2,9 y 2,8 en portadores de mutaciones en CFH, C3/CFB, MCP, CFI y presencia de dos haplotipos de riesgo en CFH y MCP, respectivamente. A los dos años de la recidiva la pérdida de los injertos fue de 75%, 71%, 72% y 50% en portadores de CFH, CFI, CFB/C3 y MCP, respectivamente.

Además de los estudios mencionados en los que se integraban pacientes trasplantados o series de casos publicados por diferentes grupos (185), (186), (187), (188), el uso de eculizumab en el trasplante renal fue analizado en un estudio de 22 pacientes, nueve de ellos tratados profilácticamente, y los otros 13 en el momento de la recidiva (187). Este estudio fue multicéntrico y agrupó a algunos pacientes que ya habían sido descritos como casos aislados de publicaciones previas y cuyos autores se pusieron de acuerdo para analizar los resultados conjuntamente. Los resultados fueron muy interesantes: de los nueve pacientes trasplantados con tratamiento profiláctico con eculizumab solamente uno de ellos perdió el injerto por trombosis, mientras que el resto no experimentó ninguna recidiva y sus injertos permanecían funcionantes a los 14 meses del seguimiento. Los 13 pacientes tratados con eculizumab por recidiva presentaron recuperación hematológica y experimentaron un descenso significativo de las cifras de creatinina plasmática que pasó de $3,3\pm 1,93$ mg/dl a $1,5\pm 0,8$ mg/dl ($p=0,002$) en los tres meses siguientes. Además, ninguno de los 11 pacientes que no interrumpieron el tratamiento con eculizumab estaba en diálisis a los 16 meses de seguimiento.

Recientemente, se han publicado los resultados de un estudio observacional de 188 pacientes trasplantados renales tratados con eculizumab con análisis a un año desde el inicio del tratamiento.(189). 88 pacientes recibieron eculizumab antes, durante y después del trasplante y otros 100 pacientes recibieron eculizumab después del trasplante, de los cuales, 48 fueron diagnosticados de SHUa por primera vez en el trascurso del trasplante. La frecuencia de diálisis a los cinco años de seguimiento fue significativamente superior en el grupo de pacientes diagnosticados después del trasplante ($RR=4,6$; $IC95\%=1,7-12,4$), que también tuvieron peor función renal (9,6 ml/min vs 61 ml/min), lo que sugiere que el retraso en el diagnóstico y en el tratamiento con eculizumab son factores determinantes del pronóstico renal en los pacientes con SHUa receptores de un trasplante renal.

Estos resultados han sido confirmados recientemente en un estudio que analiza los trasplantes renales realizados en Francia entre 2012 y 2016. Los autores concluyen que eculizumab ha modificado la epidemiología del SHUa en su país ya que el trasplante renal se ha incrementado del 46% al 72% durante ese período de tiempo por el uso de este fármaco como profilaxis de las recidivas (190).

INTRODUCCIÓN

Eculizumab es un fármaco muy caro lo que dificulta su accesibilidad (191). Su elevado coste plantea la posibilidad de su interrupción en algún momento del proceso evolutivo de la enfermedad con una monitorización clínica cuidadosa (192) (193) (194) y la individualización de su dosificación basada en un mejor conocimiento de sus propiedades farmacocinéticas (195) (196). Otros ámbitos de investigación con eculizumab tienen que ver con la valoración de posibles resistencias, como las detectadas en pacientes japoneses con mutaciones en C5, que hacen imposible la interacción del fármaco con este factor (197) o la detección de los casos de inhibición incompleta de C5 (198).

La interrupción de eculizumab plantea problemas técnicos y éticos de difícil solución (199-201). Para abordarla hay que clasificar con la mayor precisión posible a los pacientes en función del riesgo de recidiva y disponer de pruebas adecuadas para monitorizar la actividad del fármaco (202) (203). No parece que los test disponibles como la capacidad de determinar C5 libre no fijado a eculizumab (204), la determinación del cociente C3/CH50 (205) o el ensayo ex vivo de medición de C5b-C9 sobre células endoteliales (206) pueda desempeñar este papel a día de hoy puesto que solo es posible realizarlos en laboratorios especializados(207).

Se ha propuesto la realización de un estudio aleatorizado con diferentes pautas de interrupción (208); sin embargo hay que tener en cuenta que se precisarían tamaños de muestra difíciles de conseguir en una enfermedad tan poco frecuente como es el SHUa. El grupo francés de SHUa revisó la experiencia de la interrupción de eculizumab en 38 (nueve pacientes pediátricos/adolescentes y 29 adultos) de un total de 108 receptores de trasplante renal tratados con eculizumab en su país. La conclusión de ese estudio fue que la interrupción de eculizumab fue especialmente problemática en pacientes portadores de variantes patogénicas ya que se produjeron recidivas en el 72% de los portadores de variantes en CFH, 50% en los portadores de MCP y ninguna en los pacientes en los que no se había identificado ninguna variante (209).

El elevado coste de eculizumab ha llevado a un grupo holandés a realizar trasplantes de donante vivo a pacientes con SHUa sin administración profiláctica de eculizumab, con minimización de anticalcineurínicos, administración de basiliximab, y una monitorización clínica muy estricta (210) (211). El grupo de Bérgamo ha comunicado también una experiencia exitosa de trasplante de donante cadáver en receptores tratados con basiliximab (212).

Para los pacientes con mutaciones en proteínas plasmáticas, como CFH, se han propuesto como soluciones definitivas el trasplante hepático, o el combinado hepático y

INTRODUCCIÓN

renal para los que, además, presentan insuficiencia renal terminal (213) (214). Del análisis de la veintena de casos reportados hasta la fecha, se deduce que es imprescindible el uso de plasmaterapia o eculizumab en las fases iniciales del trasplante hasta que la función hepática sea operativa. En cualquier caso, este tipo de trasplante debe realizarse en centros con experiencia acreditada después de un cuidadoso balance individualizado de riesgos y beneficios del procedimiento y frente a la alternativa de tratamiento continuado con eculizumab (28) (213) (215) (216) (217).

La mortalidad en el SHUa se mantiene por debajo del 10% desde los años 90 cuando se analizaron las primeras experiencias con el uso de plasmaterapia (6) (173). La disminución y estabilización en la mortalidad podría estar relacionada con la mejoría de los cuidados iniciales de soporte. La menor mortalidad en algunas poblaciones específicas como la japonesa también podrían estar en relación con una distribución diferente de las distintas variantes genéticas y de las formas adquiridas (25) (28). En un conjunto de estudios resumido por Menne en 2019 que englobaba a 93 pacientes tratados con eculizumab solo fallecieron tres pacientes, ninguno de ellos en relación con el uso de eculizumab (181). En una revisión japonesa publicada también en el 2019, se reporta el fallecimiento de cuatro de 33 pacientes con SHUa primario tratados con eculizumab, pero sin relación con la administración del fármaco (218).

Justificación del estudio

3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El SHUa es una enfermedad rara y de mal pronóstico. Ambas condiciones justifican su estudio. La investigación es imprescindible para la adquisición de competencia clínica en su manejo, para generar y difundir su conocimiento y para planificar adecuadamente los recursos sanitarios disponibles.

El clínico no conseguirá suficiente destreza en el manejo de estas enfermedades si solo se basa en su experiencia personal necesariamente escasa o la obtiene de forma acrítica y no matizada por el rigor de la investigación propia y ajena.

La generación de conocimiento que proporciona la investigación es esencial para superar la discriminación negativa que sufren los pacientes con SHUa y que comparten con los demás pacientes portadores de enfermedades raras. Esta discriminación tiene varios motivos. Uno de ellos es que dada su baja prevalencia no están en las prioridades de la investigación biomédica. Tampoco existen incentivos para la investigación farmacéutica porque la diferencia entre la inversión necesaria para desarrollar un fármaco y el beneficio potencial es muy elevada. Además, existen dificultades metodológicas como son el bajo número de pacientes, la dificultad para su reclutamiento, los obstáculos para publicar estudios exploratorios con eventos de baja frecuencia o las deficiencias en especificidad y homogeneidad de los sistemas de clasificación entre diferentes hospitales.

Afortunadamente, en el caso del SHUa, los esfuerzos conjuntos de investigadores clínicos y básicos han logrado con sus publicaciones contribuir al conocimiento de sus mecanismos moleculares y conseguir con el bloqueante de C5a, eculizumab, un tratamiento para la enfermedad, que fue aprobado por la FDA y la EMEA en 2011, basándose en los resultados obtenidos con trabajos exploratorios, sobre un número escaso de pacientes y con períodos de seguimiento breves. El elevado coste del tratamiento del SHUa con eculizumab que oscila entre los 300.000 y los 500.000 euros anuales por paciente es un motivo más para analizar la experiencia con este fármaco, optimizar su uso y facilitar la financiación por el Servicio Nacional de Salud.

Este estudio pretende revisar con rigor la experiencia en el manejo del SHUa en el Hospital Universitario de A Coruña, generar conocimiento útil que mejore la competencia clínica de los médicos involucrados en el manejo de esta enfermedad y contribuir a los objetivos del Sistema Nacional de Salud.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La utilidad de este estudio queda avalada por el hecho de que la publicación en 2018 de algunos de sus resultados preliminares ha servido para modificar las recomendaciones terapéuticas en esta enfermedad por parte de la Sociedad Norteamericana de Aféresis en su edición de 2019 (219).

El estudio también pretende cumplir con los requerimientos del Sistema Nacional de Salud y de su Estrategia en Enfermedades Raras aprobada por el Consejo Interterritorial de Salud en 2009 y actualizada en 2014 que establece la necesidad de estimar de modo apropiado la incidencia y prevalencia de cada enfermedad y obtener información clínica y epidemiológica que permita una mejor planificación de los servicios sanitarios y desarrollar políticas en materia sanitaria y de investigación (220).

Objetivos

4 OBJETIVOS

1. Estimar la incidencia y prevalencia de SHUa por edad y población en riesgo en el área sanitaria del Hospital Universitario de A Coruña.
2. Conocer si existen diferencias por edad y sexo en la forma de presentación del SHUa en la presencia de antecedentes, en las manifestaciones clínicas extrarenales, en la severidad de la afectación hematológica y renal o en las modalidades de tratamiento utilizadas.
3. Analizar la presencia de variantes, reordenamientos y haplotipos de riesgo en los genes de las proteínas reguladoras de la vía alternativa del complemento en la cohorte de pacientes con SHUa. Definir el sentido de la mutación, el cambio inducido en la proteína codificada y determinar los valores plasmáticos de C3, C4, FH, FI y de la expresión celular de MCP.
4. Estimar la influencia de la edad, del sexo, del tipo variante genética portada, de la naturaleza familiar o esporádica de la enfermedad y de la modalidad de tratamiento sobre la incidencia y el tiempo de normalización hematológica.
5. Evaluar la influencia de la edad, del sexo, del tipo de variante genética portada, de la naturaleza esporádica o familiar de la enfermedad y de la modalidad de tratamiento sobre la incidencia de fracaso renal agudo, el tiempo e incidencia de recuperación total de la función renal y de la entrada definitiva en diálisis.
6. Estimar la influencia de la edad, del sexo, del tipo de variante genética portada, de la naturaleza esporádica o familiar de la enfermedad y de la modalidad de tratamiento sobre la incidencia de recidiva de la enfermedad.
7. Evaluar las características basales demográficas, clínicas, genéticas de los pacientes con SHUa receptores de trasplante renal y conocer la tasa de recidivas y supervivencia de pacientes e injertos, así como la utilidad del uso de eculizumab como profilaxis para evitar los episodios de recidiva.
8. Analizar la supervivencia y conocer las causas de muerte de los pacientes de la cohorte durante el período de seguimiento.
9. Estimar la prevalencia al final del seguimiento de los pacientes con función renal íntegra de los riñones nativos, con un injerto funcionante, o que precisan de tratamiento con diálisis.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

5.1.1 Tipo

Observacional de una cohorte de seguimiento retrospectivo.

5.1.2 Población

Pacientes diagnosticados de síndrome hemolítico urémico atípico en el Hospital Universitario de A Coruña.

5.1.3 Ámbito

Área sanitaria cubierta por el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de A Coruña que en el año 2005 estaba compuesta por 618.863 habitantes adultos y 77.910 habitantes de edad igual o inferior a 16 años.

5.1.4 Período del estudio

2.015-2.019

5.1.5 Seguimiento

El seguimiento de los pacientes se consideró como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico del primer episodio hasta el fallecimiento del paciente o hasta la fecha de su última revisión clínica.

5.1.6 Asignación

Para el estudio se reclutaron los pacientes ingresados en el Hospital Universitario de A Coruña y diagnosticados de síndrome hemolítico urémico (D59,3), púrpura trombocitopénica trombótica (M31,1) o microangiopatía trombótica (M31,1) mediante el sistema CIE9-MC vigente en el Servicio Galego de Saúde (1995-2015). El reclutamiento incluye desde marzo de 1984 a 2015, con seguimiento hasta final de diciembre de 2018. Los pacientes fueron asignados al estudio después de analizar sus historias clínicas y comprobar que cumplían con los atributos establecidos en los criterios de selección.

5.1.7 Criterios de inclusión

Los pacientes debieron cumplir al menos tres de los siguientes atributos para su inclusión en el estudio:

1. Anemia hemolítica microangiopática con concentraciones de hemoglobina inferior a 11 g/dl, de lactato dehidrogenasa (LDH) igual o superior a 440 UI/L, de haptoglobina inferior a 36 mg/dl y presencia de esquistocitos en sangre periférica en cantidad superior al 1%
2. Trombocitopenia definida por un recuento plaquetario inferior a 150.000 plaquetas/mm³
3. Daño renal severo definido por una creatinina plasmática superior a 1,5 mg/dl
4. Biopsia renal diagnóstica de microangiopatía trombótica

5.1.8 Criterios de exclusión

Los pacientes con los siguientes atributos se consideraron como inelegibles para su inclusión en el estudio:

- 1) Pacientes diagnosticados de púrpura trombocitopénica trombótica por ausencia de daño renal clínicamente significativo y/o por acreditar una actividad de ADAMTS13 inferior al 5%.
- 2) Infección por *Escherichia Coli* O157 productora de toxina Shiga definida por el crecimiento de colonias con incapacidad para fermentar el sorbitol cuando se siembran en agar MacConkey. Desde 2008 las colonias sorbitol negativas identificadas como *E. Coli* O157 por aglutinación se estudiaron por PCR para determinar la presencia de genes codificadores de toxina shiga (*stx1*, *stx2*) y de intimina (*eae*).
- 3) Hipertensión con edema de papila.
- 4) Enfermedades concomitantes autoinmunes, neoplasias, trasplante de médula ósea y trasplante de órganos sólidos.

5.1.9 Recolección de los datos

Los datos se obtuvieron de las historias clínicas en soporte convencional o electrónico y se almacenaron en una base de datos relacional bioestadística. La gestión y el análisis de los datos recolectados se hizo en colaboración con la Unidad de Investigación en Epidemiología y Bioestadística del Hospital Universitario de A Coruña.

5.2 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES.

Se consideraron como variables predictivas aquellas características basales clínicas, demográficas, genéticas, resultados de laboratorio y tratamientos prescritos en el episodio inicial del síndrome hemolítico urémico. Se consideraron como variables de respuesta las

manifestaciones clínicas de la enfermedad susceptibles de ser condicionadas por las variables predictivas.

5.2.1 Variables predictivas

- ***Edad***

Años del paciente en el momento del diagnóstico de síndrome hemolítico urémico atípico.

- ***Sexo***

Mujer o varón.

- ***Seguimiento.***

El tiempo de seguimiento se estableció como el transcurrido desde el diagnóstico del paciente hasta la fecha de su fallecimiento o hasta la fecha de su último contacto en la consulta.

- ***Carácter esporádico.***

Se consideró como esporádico cualquier episodio de SHUa aparecido en ausencia de antecedentes familiares de la enfermedad.

- ***Carácter familiar.***

Se consideró como familiar cualquier episodio de SHUa cuando el paciente afectado tuviera a un familiar también diagnosticado de SHUa.

- ***Factores desencadenantes.***

Se consideraron factores desencadenantes los hechos o circunstancias ambientales conocidos por su capacidad para provocar un episodio de síndrome hemolítico urémico atípico como infecciones, vacunas, fármacos, intervenciones quirúrgicas, exploraciones invasivas y embarazo.

- ***Manifestaciones neurológicas.***

Se consideraron manifestaciones neurológicas asociadas al SHUa la Irritabilidad, la letargia, los episodios de confusión, las convulsiones, el coma y el accidente cerebrovascular agudo trombótico o hemorrágico.

- ***Manifestaciones gastrointestinales.***

Se consideraron manifestaciones gastrointestinales asociadas al SHUa la presencia de diarrea no provocada por infección, sangrado digestivo, dolor abdominal y pancreatitis.

- ***Otras manifestaciones extrarenales.***

Se reportaron como tales cualquier otro síntoma o signo asociados al episodio de SHUa , recogidos en la historia clínica, como disnea, ágor, trastornos del ritmo o lesiones ulcerosas y/o necrotizantes en la piel o en los dedos de las extremidades superiores e inferiores

- ***Anemia hemolítica***

Se consideró que el paciente sufría de anemia hemolítica cuando en las determinaciones efectuadas durante el episodio inicial de SHUa se objetivó un valor de hemoglobina inferior a 11 g/dl, de lactato dehidrogenasa igual o superior a 440 UI/L y de haptoglobina inferior a 36 mg/dl.

- ***Esquistocitosis***

Se definió por la presencia de esquistocitos en el frotis de sangre periférica en un porcentaje igual o superior al 1%.

- ***Trombocitopenia***

Se consideró que el paciente sufría de trombocitopenia cuando en las determinaciones efectuadas durante el episodio inicial de SHUa se objetivó un recuento plaquetario inferior a 150.000/ mm³.

- ***Hipocomplementemia C3***

Se juzgó que el paciente manifestaba hipocomplementemia C3 cuando los valores plasmáticos de C3, obtenidos durante el episodio inicial del SHUa , estaban por debajo del rango normal de los valores (79-210 mg/dl) reportados por el laboratorio del Hospital Universitario de A Coruña .

- ***Hipocomplementemia C4***

Se juzgó que el paciente manifestaba hipocomplementemia C4 cuando los valores plasmáticos de C4 , obtenidos durante el episodio inicial del SHUa , estaban por debajo del rango normal de los valores (14-47 mg/dl) del laboratorio del Hospital Universitario de A Coruña.

- ***Coprocultivo***

Cultivo de heces en agar MacConkey con sorbitol. El cultivo en agar MacConkey discriminó los bacilos gram positivos de los gram negativos mientras que la adición de sorbitol permitió descartar a las colonias de E. Coli con serotipo O157.

- ***Hipertensión arterial***

Se consideró que el paciente era hipertenso durante el episodio inicial del síndrome hemolítico urémico atípico si precisaba de medicación antihipertensiva para mantener la tensión arterial sistólica por debajo de 140 mm de Hg , y la presión arterial diastólica por debajo de 90 mm de Hg en pacientes adultos, por debajo de 100 mm de Hg de sistólica y de 60 mm de Hg de diastólica en pacientes entre los tres y los seis años; por debajo de 105 mm de Hg de sistólica y 70 mm de Hg de diastólica en pacientes entre seis y nueve años y por debajo de 115 mm de Hg de sistólica y de 75 mm de Hg de diastólica en los pacientes entre 12 y 15 años.

- ***Proteinuria basal***

Se consideró que el paciente presentaba proteinuria clínicamente relevante durante el episodio inicial del síndrome hemolítico urémico atípico, si la excreción urinaria de proteínas era igual o superior a 500 mg/24 h.

- ***Daño renal agudo***

Se consideró que el paciente sufría de daño renal agudo durante el episodio inicial del síndrome hemolítico urémico atípico si presentaba un valor de creatinina plasmática superior en 25% al previo al episodio o, en el caso de desconocer ese valor, si la creatinina plasmática se estabilizó en un valor igual o superior a 1,5 mg/dl.

- ***Daño renal agudo con necesidad de diálisis***

Definido por la necesidad de tratar al paciente con diálisis durante el episodio inicial de síndrome hemolítico urémico atípico por incremento no controlado en el valor de la creatinina plasmática, oliguria, sobrecarga de volumen, hiperpotasemia acidosis o síndrome urémico.

- ***Biopsia renal diagnóstico***

Se consideró que la biopsia renal practicada al paciente durante el episodio inicial de síndrome hemolítico urémico era diagnóstica si mostraba fibrina y trombos plaquetarios en capilares glomerulares y arteriolas, edema, desprendimiento endotelial, acumulación de proteínas y detritus celulares en el espacio subendotelial.

- ***Tratamiento con plasmaterapia***

Tratamiento del episodio inicial del síndrome hemolítico urémico con plasmaféresis, infusión de plasma o plasmaféresis combinada con infusión de plasma. Los pacientes se diferenciaron en dos grupos según las dosis y el tiempo de administración del tratamiento. Se consideró que habían recibido plasmaterapia intensiva los que fueron tratados con infusión de plasma en cantidades superiores a 10ml/Kg de peso durante un tiempo superior a cinco días y recibieron, al menos, cinco plasmaféresis con intercambio de volumen de 60 ml/kg de peso durante 10 días. Por el contrario, se consideró que habían sido tratados con plasmaterapia de baja intensidad el resto de pacientes, incluidos los que solo recibieron plasma.

- ***Tratamiento con eculizumab***

Se consideró que los pacientes habían sido tratados con eculizumab intravenoso durante el episodio inicial de síndrome hemolítico urémico si habían recibido una dosis de inducción de 900 mg a la semana durante cuatro semanas, seguida de dosis de mantenimiento de 1200 mg cada dos semanas a partir de la quinta semana.

5.2.2 Estudios genéticos y funcionales del complemento

- ***Variantes genéticas y moleculares de componentes del complemento y de sus proteínas reguladoras***

Los cambios específicos en la secuencia de ADN o variantes genéticas se clasificaron, siguiendo los criterios de The American College of Medical Genetics and Genomics y de la Association for Molecular Pathology (221).

Se consideraron:

- Variantes patogénicas los cambios de secuencia de ADN con evidencia genética, funcional y clínica, incluyendo estudios de cosegregación con la enfermedad en familias o poblaciones
- Probablemente patogénicas los cambios de secuencia de ADN con cierta similitud con variantes patogénicas conocidas, pero sin evidencia definitiva basada en estudios funcionales o familiares y poblacionales de cosegregación con la enfermedad
- Probablemente benignas cuando existen pruebas no definitivas que sugieren que no se asocian a enfermedad
- Benignas cuando existe una evidencia definitiva de que no son causantes de enfermedad, porque su prevalencia en la población es superior a la prevalencia entre pacientes con síndrome hemolítico urémico atípico
- De significado incierto cuando no cumplen los criterios de las anteriores o existen evidencias contradictorias sobre su patogenicidad o benignidad

Se consideran:

- Polimorfismos de un nucleótido a los cambios en la secuencia de un único par de bases en el ADN que se manifiestan con una frecuencia superior al 1% de la población
- Haplotipo de riesgo en CFH gtgt, también denominado H3, compuesto por la asociación haplotípica de las variantes en CFH: -332T, c.184G, c.1204T, c.2016G y c.2808T, que ocurre con mayor frecuencia en los pacientes con síndrome hemolítico urémico atípico que en la población general
- Haplotipo de riesgo en MCP, denominado MCP_{ggaac} compuesto por la asociación haplotípica de las variantes 547G y -261G y c.2232C situadas en la región promotora del gen MCP que ocurre con mayor frecuencia en los pacientes con síndrome hemolítico urémico atípico que en la población general
- Reordenamientos en CFHR1-5. Procesos de recombinación no homóloga entre los genes CFHR1-5 que conducen a la delección, duplicación o aparición de genes híbridos

➤ *Análisis genético y otros estudios del complemento.*

Para el análisis genético se obtuvo el ADN de células sanguíneas periféricas utilizando procedimientos estándar. En 22 pacientes los genes *CFH*, *CFI*, *MCP* y *CFHR1* se analizaron por medio de secuenciación por el método de Sanger. En todos los casos los exones fueron amplificados usando *primers* específicos derivados de secuencias intrónicas 5' y 3' y la secuenciación automática se realizó en un ciclador AB13730 (Applied Biosystems). En 15 pacientes las mutaciones fueron analizadas utilizando dos paneles de secuenciación de nueva generación (NGS): El Ion protón NGS incluyó los genes *CFH*, *MCP*, *CFI*, *C3*, *CFB*, *DGKE*, *THBD*, *CFHR1*, *CFHR2*, *CFHR3*, *CFHR4*, *CFHR5*, *CFP* and *ADAMTS13* genes y el Illumina que analizó 48 genes incluyendo todos los genes del complemento y otros adicionales que pudieran tener relación con el SHUa.

La anotación de las variantes genéticas se hizo con ANNOVAR. Las variantes comunes con una frecuencia >1% fueron excluidas. Para la identificación de nuevas variantes y de las variantes patogénicas se utilizaron diferentes bases de datos: Exome Variant Server, 1000 Genomes, NCBI dbSNP, aHUS mutation database (www.fh-hus.org) o la propia base de datos del Laboratorio de Biología Celular del CSIC dirigido por el Prof. S. Rodríguez de Córdoba, en Madrid. El análisis de las variaciones en el número de copias en la región *CFH-CFHRs* se realizó por MLPA.

➤ *Estudios moleculares del sistema del complemento*

Los valores plasmáticos de *C3*, *FH* y *FI* se midieron por el método de ELISA. Los valores de MCP en los linfocitos de sangre periférica se determinaron por citometría de flujo. Los autoanticuerpos frente a FH se analizaron por medio de un ELISA usando placas con FH purificado. Los valores normales de FH se establecieron en 12-56 mg/dL; los de CFI en 71-115% y la expresión de MCP en 91-109%.

La medición de los valores plasmáticos de C3 y C4 se realizó con técnicas de nefelometría considerando el rango normal para C3 entre 79 y 210 mg/dL y de C4 entre 14 y 47 mg/dL.

5.2.3 Variables de respuesta

➤ **Incidencia**

Número de pacientes que presentaron un episodio nuevo de síndrome hemolítico urémico atípico cada año por millón de habitantes entre 1984 y 2015 en la población de adultos del área de referencia del Hospital Universitaria de A Coruña

y del Hospital de el Ferrol. La estimación de la tasa de incidencia se estimó anualmente y por quinquenios.

La incidencia se estimó mediante la tasa de incidencia definida como el cociente entre el número de nuevos episodios en el quinquenio y el número de pacientes en riesgo. El resultado se presenta referido a 1.000.000 pacientes/año.

➤ **Prevalencia**

Número de pacientes adultos diagnosticados de síndrome hemolítico urémico atípico en la población de adultos asistida por el Hospital Universitaria de A Coruña y del Hospital de el Ferrol por quinquenios. La prevalencia se estimó teniendo en cuenta las mermas de pacientes por mortalidad o por pérdida de seguimiento. El resultado se presenta referido a 1.000.000 pacientes/año.

Para los cálculos de incidencia y prevalencia se utilizó la población de referencia del Hospital Universitario de A Coruña a partir de los datos proporcionados por el Staff de Gerencia del propio Hospital.

➤ **Normalización hematológica de la MAT**

Se consideró que el paciente estaba en situación de normalidad hematológica cuando alcanzó valores de plaquetas igual o superior a 150.000/mm³ y de LDH inferior a 440 UI/L mantenidos durante cuatro o más semanas, al menos en dos mediciones consecutivas.

➤ **Recuperación íntegra de la función renal**

Se estableció que el paciente había recuperado íntegramente la función renal cuando el valor de su creatinina plasmática descendió a valores inferiores a 1,5 mg/dl.

➤ **Insuficiencia renal crónica**

Se consideró que el paciente había evolucionado al estado de insuficiencia renal crónica cuando el valor de su creatinina plasmática alcanzó valores estables iguales o superiores a 1.5 mg/dl, sin necesidad de tratamiento substitutivo con diálisis o trasplante.

➤ **Insuficiencia renal terminal**

Se consideró que el paciente había evolucionado al estado de insuficiencia renal terminal cuando necesitó de diálisis o trasplante como medida de tratamiento substitutivo permanente.

➤ **Hipertensión arterial permanente**

Se consideró que el paciente presentaba hipertensión arterial permanente si al final de su seguimiento necesitaba de medicación antihipertensiva para mantener la tensión arterial por debajo de los valores establecidos previamente para pacientes adultos , adolescentes y pediátricos

➤ **Recidiva**

○ Recidiva en riñones nativos

La recidiva se definió por la aparición, después del episodio inicial de SHUa, de nuevas manifestaciones clínicas: neurológicas, cardiovasculares o episodios de trombosis asociadas a la repetición de uno de los siguientes hallazgos: disminución del recuento plaquetario en un 25% o más respecto a los valores previos en rango de normalización hematológica, Incremento en los niveles de LDH en un 25% o más respecto a los valores previos en rango de normalización hematológica o el Incremento en la creatinina plasmática en un 25% o más respecto a los valores obtenidos previamente en fase de estabilización.

○ Recidiva en el trasplante

La recidiva en el trasplante se definió como disfunción del injerto renal acompañada de manifestaciones de MAT en la biopsia. En ausencia de biopsia se define clínicamente como disfunción renal con incremento de los valores de creatinina plasmática acompañada de al menos dos parámetros hematológicos (descenso del nivel de plaquetas, anemia, incremento de LDH, presencia de esquistocitos en sangre periférica o descenso de la cifra de haptoglobina).

➤ **Supervivencia del paciente**

La supervivencia del paciente se estimó por la probabilidad del paciente para permanecer con vida después del episodio inicial a lo largo del tiempo de seguimiento.

Para computar la mortalidad se incluyeron a todos los pacientes fallecidos durante el seguimiento con independencia de la causa de su muerte

➤ Supervivencia renal

La supervivencia renal se estimó por la probabilidad del paciente para mantenerse libre de diálisis después del episodio inicial o de recidiva a lo largo del tiempo de seguimiento.

5.3 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Las variables dicotómicas y categóricas se describen con su frecuencia absoluta (n) y porcentaje (%), y las continuas con la media y la desviación típica (DS) si la distribución era normal o con la mediana (Md) y el rango intercuartil (RIQ), si los datos no seguían una distribución normal

Para analizar la distribución de las variables continuas se utilizó el test de Kolmogorow si había más de 30 casos, y el de Shapiro si había menos de 30 casos, aceptando la distribución normal en caso de no poder rechazar la hipótesis nula ($p > 0,050$). También se comprobó si tenían varianzas homogéneas con el test de Levene.

La comparación entre variables dicotómicas independientes se realizó estimando en tablas de contingencia la diferencia entre el número y porcentaje de eventos ocurridos en cada cohorte y calculando el estadístico chi-cuadrado de Pearson, o el test exacto de Fisher si más del 20% de las celdas tenían una frecuencia esperada inferior a 5.

Para comparar las variables continuas en dos muestras independientes se utilizó el test *t* de Student, si la distribución de sus valores fue normal y las varianzas homogéneas, o el test de la U de Mann-Whitney en caso contrario.

La magnitud del efecto se calculó mediante la diferencia de riesgos o con el riesgo relativo cuando las variables predictivas y de efecto fueron dicotómicas, y mediante la diferencia de medias en el caso de las variables de efecto continuas. La estimación de la magnitud del efecto se describió con el intervalo de confianza del 95% (IC95%).

Se implementó un modelo de regresión de Cox multivariable con el objetivo de controlar posibles factores de confusión (edad/factores genéticos).

Para valorar la eficacia del tratamiento con eculizumab sobre la plasmaterapia, la magnitud del efecto se estimó además con el número de pacientes necesarios a tratar (NNT) para producir un evento y su intervalo de confianza es del 95%.

La supervivencia de pacientes e injertos se estimó con el método de *Kaplan Meier* con datos censurados. La comparación de curvas de supervivencia se realizó con la prueba

de rangos logarítmicos (test de log-rank).

Todos los tests se realizaron con un planteamiento bilateral, se consideraron significativos valores de $p < 0,050$. El análisis estadístico se realizó con los programas SPSS versión 19 (IBM SPSS Statistics) y Epidat 3.1. (Dirección Xeral de Innovación e Xestión da Saúde Pública, Xunta de Galicia y Organización Panamericana de la Salud (OPS-OMS).

Aspectos éticos y legales

6 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Este estudio se realizó de acuerdo a la legislación vigente y en concreto con:

- Declaración de Helsinki 1975
- Ley 15/1999, de protección de datos de carácter personal y el reglamento que la desarrolla
- Ley 41/2002 básica reguladora da autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica
- Ley 3/2005, de modificación de la Ley 3/2001, reguladora del consentimiento informado y de la historia clínica de los pacientes
- Decreto 29/2009, de 5 de febrero, por el que se regula el uso y acceso a la historia clínica electrónica

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Galicia (anexo)

Código de registro 2015/482

7 RESULTADOS

7.1 PACIENTES

Se revisaron 122 historias clínicas de pacientes codificados mediante el sistema CIE9-MC con los diagnósticos de SHU (D59,3), PTT (M31,1) o MAT (M31,1). Tras aplicar los criterios de inclusión/exclusión la muestra final estudiada fue de 48 pacientes.

Se excluyeron 74 (61%) pacientes: 39 (32%) por el diagnóstico de PTT; 10 (8%) por ser receptores de un trasplante de órgano sólido (siete de pulmón, dos renales y un cardiaco); siete (6%) por ser portadores de una neoplasia (tres de próstata, dos gastrointestinales y dos de origen hematológico); siete (6%) por pérdida de seguimiento; tres (2%) por enfermedad autoinmune; dos (1,6%) por infección gastrointestinal por *Escherichia Coli*, tres (2%) por sospecha de infección por *Escherichia Coli* (pródromos con diarrea, ausente al ingreso y sin coprocultivo); dos (1,6%) por infección VIH y otro por hipertensión arterial maligna (Fig 7).

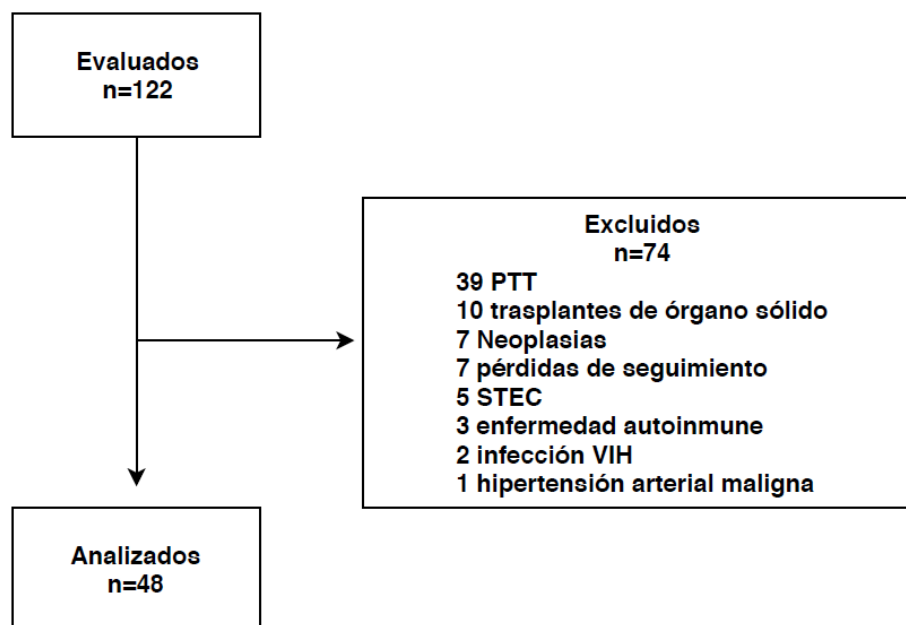


Figura 7: Pacientes seleccionados para el estudio entre los diagnosticados de MAT/SHUa/PTT con el sistema CIE-9 MC, en el Hospital Universitario de A Coruña. 1984-2015

7.2 SEGUIMIENTO.

El seguimiento fue de Md=13 años, RIQ=(6-18). El seguimiento de los pacientes tratados con eculizumab fue de Md=4 años, RIQ= (4,5-5) (p=0,010) , ya que el tratamiento con eculizumab fue aprobado para su uso terapéutico en el SHUa en el año 2011.

7.3 INCIDENCIA Y PREVALENCIA

7.3.1 Incidencia

En la figura 8 se describe la incidencia quinquenal en términos absolutos de pacientes pediátricos/adolescentes y adultos. En el caso de los pacientes adultos se observa una mayor fluctuación con más estabilidad a partir del quinquenio 1995-1999, solo interrumpida en el quinquenio 2000-2004.

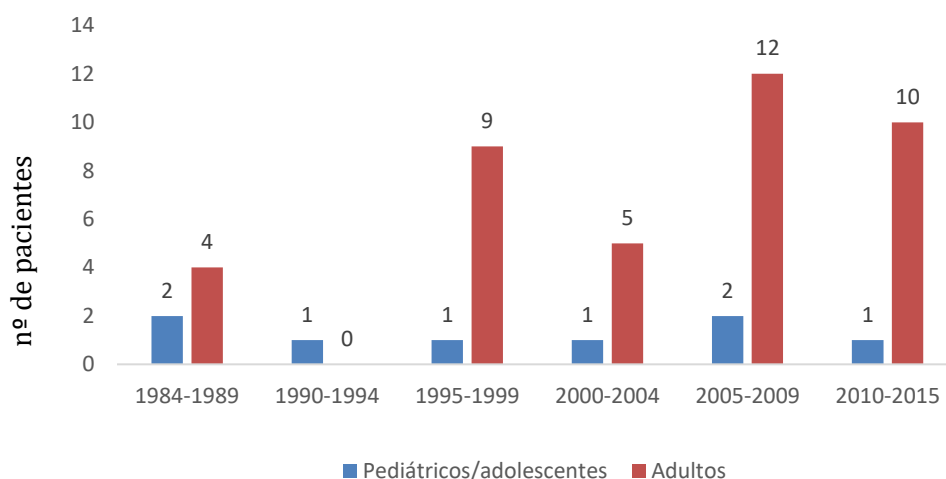


Figura 8: Número de casos por quinquenios en población pediátrica/adolescente y adulta diagnosticados de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña

Se calculó por separado la incidencia del SHUa en los pacientes diagnosticados en la edad pediátrica/adolescente y en los que presentaron la enfermedad en la edad adulta, de acuerdo con sus respectivas poblaciones en riesgo. Para ello, se utilizó como población en riesgo el número de habitantes con esas edades en la población de referencia del Hospital Universitario de A Coruña en el año 2005, fecha que se corresponde con la mitad del periodo del estudio. En ese año la población con edad igual o inferior a 16 años fue de 77.910 personas y la de pacientes con edad superior 16 años fue de 696.773 personas.

Con estos datos las medias de incidencia anual de los pacientes diagnosticados en la edad pediátrica y en los que presentaron la enfermedad en la edad adulta fueron

RESULTADOS

3,2/1.000.000 habitantes/año y 2,1/1.000.000 habitantes/año, respectivamente, referidos a población en riesgo.

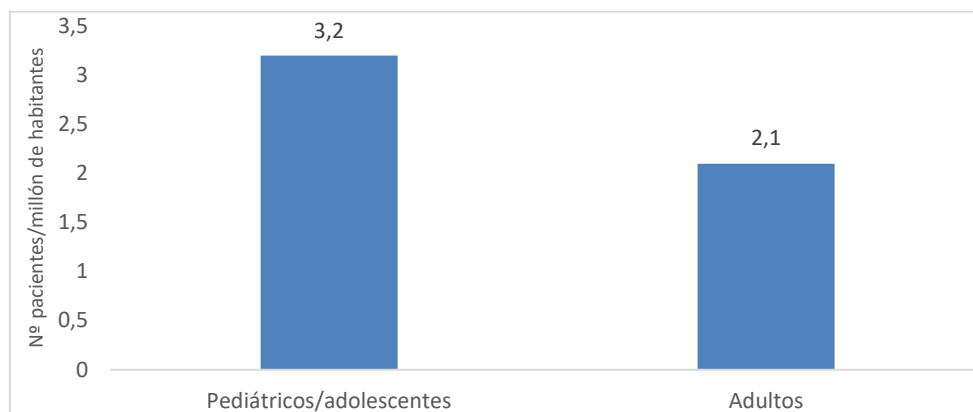


Figura 9: Incidencia por millón de pacientes diagnosticados de SHUa en población pediátrica/adolescente y adulta en el Hospital Universitario A Coruña. 1984-2015

La incidencia anual de pacientes pediátricos y adultos referida a la población total de nuestra área sanitaria fue de 0,37/1.000.000 habitantes/año y 1,85/1.000.000 habitantes/año respectivamente.

La incidencia anual de pacientes con SHUa de todas las edades en referencia a la población total fue de 2,2/1.000.000 habitantes/año.

7.3.2 Prevalencia

En el año 2015, fecha de terminación del reclutamiento de pacientes, se habían producido siete fallecimientos en la cohorte y seis pacientes diagnosticados en edad pediátrica se habían convertido en adultos, con lo que, la prevalencia total, de pacientes adultos y de pacientes pediátricos era de 59; 63 y 25 pacientes por 1.000.000 habitantes, respectivamente. Estas cifras suponen que en nuestra área sanitaria existe actualmente un paciente con SHUa por cada 16.994 habitantes.

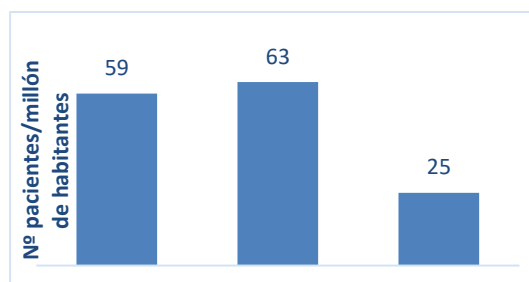


Figura 10: Prevalencia por millón de pacientes diagnosticados de SHUa al final del periodo de reclutamiento en población total y desglosado en población adulta y pediátrica/adolescente

7.4 CARACTERÍSTICAS BASALES

Las características demográficas y clínicas de los pacientes en el momento del diagnóstico se describen en la Tabla 2.

Tabla 2: Características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña.1984-2015

Característica	Pacientes N=48
Edad, años, media±DT	39±22
Adultos, n (%)	40 (83)
Mujeres, n (%)	25 (52)
Seguimiento, años, Md, (RIQ)	13 (6-18)
Esporádico ,n (%)	39 (81)
Asociado a embarazo, n (%)	2 (4)
Desencadenantes, n (%)	18 (37)
Afectación neurológica, n (%)	12 (25)
Afectación gastrointestinal, n (%)	16 (33)
Hemoglobina < 11 g/dL, n(%)	46 (96)
Hemoglobina g/dl, Md, (RIQ)	8,5(7,5-9)
>1% esquistocitos, n,(%)	39 (81)
LDH > 440 UI/L n,(%)	48 (100)
LDH (UI/L), Md, (RIQ)	2483 (1604-2665)
Haptoglobina <36 mg/dl, n (%)	29 (91)*
Haptoglobina mg/dl, Md, (RIQ)	5,8 (5,8-8)*
Trombocitopenia, n (%)	46 (96)
Plaquetas/mm ³ , Md, (RIQ)	55500 (32250-79750)
Creatinina mg/dl, Md, (RIQ)	5,9 (3,3-8)
Hipertensión arterial ,n (%)	39 (81)
Tensión arterial sistólica, mm de Hg media±DT	156 (31)
Tensión arterial diastólica mm de Hg, media±DT	86 (19)
Biopsia renal en el primer episodio ,n (%)	14 (29)
Diálisis ,n(%)	37 (77%)
Plasmaféresis/infusión plasma ,n(%)	48 (100)
Eculizumab en segunda línea , n (%)	5 (10)

*Determinada solo en 32 pacientes

RESULTADOS

El 83% fueron diagnosticados en la edad adulta y un 52% fueron mujeres. En 81% la forma de presentación fue esporádica y en el 37% se pudo identificar algún factor desencadenante, siendo las infecciones las más frecuentes (Tabla 3).

Tabla 3: Factores desencadenantes de SHUa en relación a edad y sexo en la población diagnosticada de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña

Desencadenantes	Total	Mujer	Varón	Adultos	Pediátrico/ adolescente
Infección	11	5	6	10	1
Cirugía	3	1	2	3	0
Exposición al frío	2	0	2	2	0
Ejercicio físico intenso	1	1	0	1	0
Embarazo	2	2	0	2	0

En dos mujeres, el factor desencadenante fue el embarazo con presentación del episodio en la fase postparto. En otros dos pacientes el episodio inicial se asoció a exposición al frío, en un caso accidental por caída al mar, y en otro tras exposición laboral en dos ocasiones: en la presentación de la enfermedad y en un episodio de recidiva.

El 58% de los pacientes experimentaron manifestaciones extrarenales de la enfermedad, siendo las más frecuentes las gastrointestinales, en forma de diarrea con coprocultivo negativo, que afectaron al 33%. El 25% presentaron manifestaciones neurológicas como convulsiones o trastornos confusionales.

Presentaron anemia con valores de hemoglobina inferiores a 11 g/dL un 96% de los pacientes, con una mediana y rango intercuartil de 8,5 g/dL (7,5-9). 46 pacientes (96%) cursaron con trombocitopenia menor de 150.000 plaquetas/mm³ (Md=55500; RIQ=(32250-79750) plaquetas/mm³). Todos presentaron valores de LDH superiores 440 U/L con una mediana y rango intercuartil de 2483 (1604-2665) U/L. Un 91% de los pacientes estudiados para este parámetro cursaron con valores bajos de haptoglobina plasmática (Md=5,8 mg/dL, RIQ=(5,8-8)). Además, en 81% de los pacientes se objetivó la presencia de esquistocitos en sangre periférica en cantidad superior al 1%.

RESULTADOS

Todos los pacientes presentaron alteración importante de la función renal con valores de creatinina plasmática iguales o superiores a 1,5 mg/dL. Un 77% requirieron diálisis como tratamiento inicial y a un 29% de los pacientes se les realizó una biopsia renal que confirmó en todos los casos la existencia de microangiopatía trombótica en fase aguda, excepto en dos pacientes adultos, en uno de los cuales los hallazgos fueron de microangiopatía crónica con infiltrado eosinófilo intersticial agudo, y en el otro, el material obtenido de su biopsia se consideró insuficiente para el diagnóstico. El 87% de los que se dispuso de ese parámetro inicial mostraron proteinuria con valores iguales o superiores a 500 mg/24 h.

Un 81% presentaron hipertensión arterial durante el episodio inicial con una media y DT de tensión arterial sistólica de 156 (31) mm de Hg y de tensión arterial diastólica de 86 (19) mm de Hg.

Todos los pacientes fueron tratados con plasmaterapia. El 89% se trataron con plasmaterapia exclusivamente, de los que un 73% fueron tratados con plasmaterapia intensiva y el 27% restante con plasmaterapia de baja intensidad. Las sesiones de plasmaterapia se iniciaron precozmente (Md=1 día; RIQ=0-5) y solamente uno de cada cuatro recibieron nueve o menos sesiones (Md=12 sesiones; RIQ=9-12). Un 11% de los pacientes se trataron con eculizumab en segunda línea

7.4.1 Características basales según la edad

El SHUa se presentó en la edad adulta en el 83% de los pacientes y durante la edad pediátrica/adolescencia en el 17% restante ($p < 0,001$). La media (\pm DT) de edad de los pacientes adultos fue de 45 ± 19 años y la de los diagnosticados en edad pediátrica/adolescencia de 8 ± 5 años. La forma de presentación familiar fue más frecuente en los pacientes pediátricos 37% que en los adultos que fue del 10% ($p = 0,040$). El seguimiento fue similar en ambos grupos: Md=13 años, RIQ=(2-25) para los pacientes pediátricos/adolescentes y Md=12 años, RIQ=(6-18) para los adultos.

La prevalencia de mujeres fue similar entre los adultos y ligeramente superior en el grupo pediátrico. Los pacientes adultos presentaron factores desencadenantes con mayor frecuencia que los pediátricos/adolescentes. En contraposición, los pacientes pediátricos/adolescentes manifestaron alteraciones gastrointestinales con mayor frecuencia que los adultos. Ninguna de estas diferencias entre grupos fue estadísticamente significativa. Las manifestaciones neurológicas fueron iguales en ambos grupos etarios.

RESULTADOS

El 100% de los adultos debutaron con valores plasmáticos de hemoglobina inferiores a 11 g/dl frente al 75% en los pediátricos/adolescentes ($p=0,020$). Además, los valores de hemoglobina fueron 0,7 g/dL inferiores en los pacientes adultos, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,790$). Los pacientes pediátricos/adolescentes debutaron con valores plasmáticos de LDH superiores a los presentados por los pacientes adultos: $Md=3423$ UI/L, $RIQ=(2483-6333)$ vs $Md=2317$ UI/L, $RIQ=(1524-2539)$ ($p=0,010$).

Los valores de creatinina plasmática fueron de $Md=6,4$ mg/dl, $RIQ=(3,8-10)$ en los pacientes adultos y de $Md=2$ mg/dl, $RIQ (1,4-6,6)$ en los pediátricos/adolescentes ($p=0,040$). Además 82% de los pacientes adultos precisaron de diálisis en el episodio inicial frente al 50% en los pacientes pediátricos/adolescentes ($p=0,040$).

Solamente se dispuso de valores de proteinuria inicial en 24 pacientes. De los 21 pacientes en los que se objetivó proteinuria superior a 500 mg/24 h, el 81% correspondió a pacientes adultos frente a un 19% en los pacientes pediátricos/adolescentes, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Presentaron hipertensión arterial al inicio un 90% de los pacientes adultos frente al 37% de los pediátricos/adolescentes ($p=0,001$). Consecuente con ello, los valores iniciales de tensión arterial sistólica y diastólica fueron superiores en los pacientes adultos que en los pediátricos/adolescentes: tensión arterial sistólica (163 mm de Hg; $DT=17$ mm de Hg vs 126 mm de Hg; $DT=27$ mm de Hg) ($p=0,002$) y tensión arterial diastólica (90 mm de Hg; $DT=19$ mm de Hg vs 72 mm de Hg; $DT=12$ mm de Hg) ($p=0,010$).

Todos los pacientes pediátricos fueron tratados con plasmaterapia exclusivamente y, de los cinco pacientes tratados con eculizumab en segunda línea, todas, excepto una, fueron mujeres (Tabla 4).

7.4.2 Características basales según el sexo

El 52% de los pacientes fueron mujeres frente el 48% varones. Las mujeres presentaron la enfermedad con menor edad (35 ± 21 años) que los pacientes varones (45 ± 22 años) ($p=0,200$). En el caso de los pacientes diagnosticados en la edad adulta la edad de presentación se aproximó más entre las mujeres $41,0\pm 19,0$ años y los varones $48,0\pm 19,0$ años, aunque en ninguna de las circunstancias las diferencias fueron estadísticamente

RESULTADOS

significativas. El seguimiento fue similar en las mujeres: Md=12,5 años, RIQ=(9,2-20,0) que en los varones Md=10,0 años, RIQ=(5-17) para los adultos ($p=0,230$) (Tabla 5).

No se encontraron diferencias significativas entre mujeres y varones en cuanto a la forma de presentación o los antecedentes con la salvedad de que en el 8% de las mujeres el factor condicionante fue el embarazo en la fase postparto. Las mujeres presentaron manifestaciones gastrointestinales con mayor frecuencia que los varones: 40% vs 26%. En contraposición los varones debutaron con manifestaciones neurológicas con más frecuencia que las mujeres 30% vs 20%. Ninguna de estas diferencias entre grupos fue estadísticamente significativa.

Un 96% de las mujeres y 95% de los varones presentaron valores iniciales de hemoglobina inferiores a 11 g/dL ($p=0,900$). Los valores de hemoglobina fueron inferiores en las mujeres que en los varones, pero no de forma significativa: 8,1 g/dl (1,5) vs 8,4 g/dl (1,4) ($p=0,650$). Además, las mujeres cursaron con niveles superiores de LDH ($p=0,390$), con mayor frecuencia de esquistocitosis en sangre periférica ($p=0,690$), valores similares de haptoglobina plasmática ($p=0,300$) y valores de plaquetas inferiores que los pacientes varones ($p=0,390$) (Tabla 5).

Los valores de creatinina plasmática fueron de 6,4 mg/dl RIQ=(4,1-12,2) en las mujeres y de 4,6 mg/dl, RIQ=(2,6-6,8) en los pacientes varones ($p=0,030$). El 87% de las mujeres precisaron diálisis como tratamiento inicial frente al 64% de los pacientes varones, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,230$). De los 21 pacientes en los que se objetivó proteinuria superior a 500 mg/24 h, el 48% correspondió a mujeres y el 52% a pacientes varones ($p=0,530$).

La hipertensión arterial fue más frecuente en los pacientes varones que en las mujeres: 87% vs 76% ($p=0,020$). Los valores iniciales de tensión arterial sistólica y diastólica fueron similares en ambos grupos de pacientes: tensión arterial sistólica (157±24 mm de Hg; vs 155±37 mm de Hg) y tensión arterial diastólica (83±17 mm de Hg; vs 89±20 mm de Hg) ($p=0,880$ y 0,360 respectivamente).

Tanto las mujeres como los varones recibieron tratamiento con plasmaterapia en primera línea. El 16% de las mujeres recibieron, además, eculizumab en segunda línea frente al 4% de los pacientes varones ($p=0,180$).

RESULTADOS

Tabla 4: Comparación según la edad de las características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña

Característica	Adultos N=40	Pediátricos N=8	P
Edad, años, media±DT	45±19	8±5	<0,001
Mujeres, n (%)	20 (50)	5 (62)	ns
Seguimiento (años), Md (RIQ)	12 (6-18)	13 (2-25)	ns
Esporádico, n (%)	34 (85)	5 (63)	ns
Desencadenantes, n (%)	16 (33)	2 (25)	ns
Afectación neurológica, n (%)	10 (25)	2 (25)	-
Afectación gastrointestinal, n (%)	12 (30)	4 (50)	ns
Hemoglobina <11g/dL, n (%)	40 (100)	6 (75)	0,020
Hemoglobina (g/dl), Md (RIQ)	8,1 (1,4)	8,8 (1,9)	ns
>1% esquistocitos, n (%)*	32 (89)	7 (87)	ns
LDH > 440UI/L, n (%)	40 (100)	8 (100)	-
LDH (UI/L), Md (RIQ)	2317 (1524-2539)	3423 (2483-6333)	0,010
Haptoglobina<36mg/dl, n (%)	25 (62)	4 (50)	ns
Haptoglobina (mg/dl), Md (RIQ)	5,83 (5,83-8)	5,83 (5,83-8,8)	ns
Trombocitopenia, n (%)	38 (95)	8 (100)	ns
Plaquetas/mm ³ , Md (RIQ)	60820 (36450-83500)	36000 (22250-57250)	ns
Creatinina (mg/dl), Md (RIQ)	6,4 (3,8-10)	2 (1,4-6,6)	0,040
Hipertensión arterial, n (%)	36 (90)	3 (37)	0,001
Tensión arterial sistólica (mm de Hg), media±DT	163 (27)	126 (17)	0,002
Tensión arterial diastólica (mm de Hg), media±DT	90 (19)	72 (12)	0,010
Biopsia renal en el primer episodio, n (%)	13 (32)	1 (12)	ns
Diálisis, n (%)	33 (82)	4 (50)	0,040
Plasmaféresis/infusión plasma, n (%)	35 (88)	8 (100)	ns
Eculizumab en segunda línea, n (%)	5 (12)	0	-

RESULTADOS

Tabla 5: Comparación según el sexo de las características basales demográficas, clínicas, analíticas y tipo de tratamiento recibido en los 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña

Característica	Mujeres N=25	Varones N=23	p
Edad (años), media±DT	35±21	43±22	ns
Pediátricos, n (%)	5 (20)	3 (13)	ns
Seguimiento (años), Md (RIQ)	12,5 (9,2-20)	10 (5-17)	ns
Esporádico, n (%)	22 (88)	19 (83)	ns
Desencadenantes, n (%)	9 (36)	9 (39)	ns
Afectación neurológica, n (%)	5 (20)	7 (30)	ns
Afectación gastrointestinal, n (%)	10 (40)	6 (26)	ns
Anemia, n (%)	24 (96)	22 (95)	ns
Hemoglobina (g/dl), Md (RIQ)	8,1 (1,5)	8,4 (1,4)	ns
>1% esquistocitos, n (%)*	22 (92)	17(81)	ns
LDH >440UI/L n (%)	25 (100)	23 (100)	-
LDH (UI/L), Md (RIQ)	2483 (1640-3247)	2317 (1615-2483)	ns
Haptoglobina<36mg/dl, n (%)	14 (56)	15 (65)	ns
Haptoglobina (mg/dl), Md (RIQ)	5,8 (5,8-6)	6 (5,8-8,9)	ns
Trombocitopenia, n (%)	25 (100)	21 (91)	ns
Plaquetas/mm ³ , Md (RIQ)	52000 (29000-83750)	58000 (37500 -76500)	ns
Creatinina (mg/dl), Md (RIQ)	6,4 (4,1-12,2)	4,6 (2,6-6,8)	0,030
Hipertensión arterial, n (%)	19 (76)	20 (87)	0,020
Tensión arterial sistólica (mm de Hg), media±DT	155±37	157±24	ns
Tensión arterial diastólica (mm de Hg), media±DT	89±20	83± 17	ns
Biopsia renal en el primer episodio, n (%)	9 (39)	5 (20)	ns
Diálisis, n (%)	20 (87)	16 (64)	ns
Plasmaféresis/infusión plasma, n (%)	21 (84)	22 (95)	ns
Eculizumab en segunda línea, n (%)	4 (16%)	1 (4%)	ns

7.5 VARIANTES GENÉTICAS

7.5.1 Pacientes afectados

En el 77% de los pacientes se estudiaron los genes de las proteínas de la vía alternativa del complemento. La frecuencia de pacientes estudiados fue similar en los pacientes pediátricos (75%), en adultos (77%), en mujeres (76%) y en varones (78%). El 16% de los estudios se realizaron en el momento del diagnóstico, el 84% restante lo hicieron, posteriormente, para la realización de este estudio.

En 59% de los pacientes estudiados se analizaron los genes CFH, MCP y CFI (panel reducido) y en el 41% restante, además, C3, CFB, trombomodulina y hasta otros 45 genes candidatos (panel amplio). En todos ellos se analizaron los polimorfismos de riesgo en CFH (H3) y en MCP (ggaac), los reordenamientos en la región CFHR1-5 y los anticuerpos anti FH. Los motivos para no realizar los estudios genéticos fueron en el 45% por cambio de domicilio, en otro 45% por fallecimiento de los pacientes y en 9% por ausencia de consentimiento.

En el 57% de los pacientes con estudios genéticos se identificó alguna variante en los genes codificadores de las proteínas del complemento: en el 45% de los analizados con el panel reducido y en el 73% de los analizados con el panel amplio. En ninguno de los 37 pacientes estudiados se detectaron anticuerpos anti factor H.

7.5.2 Tipología de las variantes

Se detectaron 31 variantes en genes relacionados con proteínas del complemento, en un caso asociada a otra variante en ADAMTS13. Las variantes se manifestaron en todos los casos en heterocigosis: 23 fueron de cambio de sentido (missense), una sin sentido (nonsense), cuatro intrónicas, una duplicación, otra en el promotor del gen y otra como gen híbrido. Las variantes se manifestaron aisladamente en el 67% de los pacientes y en forma combinada en el 33% restante. El 52% de las variantes fueron patogénicas y el 48% restante de significado incierto (Tabla 6).

RESULTADOS

Tabla 6: Edad, sexo, tipologías genéticas de las variantes y haplotipos de riesgo detectados en los 37 pacientes estudiados de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

Paciente	Edad	Sexo	Variantes Patogénicas	Variantes de significado incierto	Haplotipo riesgo CFH	Haplotipo riesgo MCP
SHU34	34	Varón	<i>CFH: Exón 6, c. 704A>G*</i>		No	Homocigosis
SHU48	33	Mujer	<i>CFH: Exón 14: c. 2540 A>T*</i>		Heterocigosis	Homocigosis
SHU49	21	Varón	<i>CFH: Exón 23; c. 3572 C>T</i>		Heterocigosis	No
SHU50	23	Varón	<i>CFH: Exón 23: c. 3643 G>A</i> <i>MCP: Exón 3 c. 413 G>A*</i>		Heterocigosis	No
SHU19	75	Mujer		<i>CFH: c.3148A>T</i>	No	No
SHU1	5	Varón	<i>MCP: Exón2 c.251A>G</i>		No	Heterocigosis
SHU3	5	Mujer	<i>MCP: Intrón 2; c. 287-2A>G</i>	<i>CFI: exón 1; c. 13G>A</i>	No	No
SHU22	24	Mujer	<i>MCP: Intrón 2: c. 286 + 2T>G)</i>	<i>CFI: c. 1534 +5G>T</i>	Heterocigosis	Homocigosis
SHU36	29	Varón	<i>C3:Exón 2: c.193A>C</i> <i>MCP: Exón c.728G>T</i>		No	Heterocigosis
SHU38	15	Mujer		<i>MCP: promotor :c. 325 A>C*</i>	Homocigosis	No
SHU18	35	Varón		<i>MCP: Exón 2: C-186T>A*</i>	Heterocigosis	No
SHU39	36	Varón		<i>C3; Exón 2;c.193A>C</i>	Homocigosis	Homocigosis
SHU11	62	Varón		<i>C3: Exón 15: c.1855G>A</i>	No	Heterocigosis

RESULTADOS

Paciente	Edad	Sexo	Variantes Patogénicas	Variantes de significado incierto	Haplotipo riesgo CFH	Haplotipo riesgo MCP
SHU16	40	Mujer		<i>C3: -3_-2 dupAC 5'UT</i> -	Homocigosis	Homocigosis
SHU27	49	Varón	<i>CFHR1: Exón6: c. 869T>C*; c. 887C>T*</i>	<i>CFH: Exón 9: c. 1231 T>A</i>	Heterocigosis	No
SHU41	32	Mujer	<i>CFHR1: Exón 6 : c. 869 T>C*; c. 887 C>T*</i>	<i>CFH: Exón 9: c. 1231T>A</i>	Heterocigosis	No
SHU35	50	Varón		<i>CFHR1: Exón 6: c. 868 T>G*</i>	Heterocigosis	No
SHU25	61	Mujer		<i>CFHR2: c.325A>G</i> <i>ADAMTS13;c.2195C></i>	(H2, H3)	No
SHU32	73	Varón	<i>CFHR3: Exón3; c.413C>T</i>		No	Heterocigosis
SHU26	59	Varón	<i>Gen híbrido CFHR3-CFHR4</i>		H3, H4a	Heterocigosis
SHU44	17	Mujer		<i>CFD: Exón 4; c.1561 C>A*</i> <i>C6; Intrón 16 ;c.2381C>A*</i> <i>C7;c.1561C>A**</i>	No	No

*Variantes descritas por primera vez

Se encontraron variantes en el 58% de los pacientes adultos estudiados; en el 50% de los pediátricos; en el 42% de las mujeres y en el 72% de los varones. Las variantes más frecuentes en el conjunto de la cohorte se encontraron en genes codificadores de proteínas CFHRs (13%) y en CFH (11%). La distribución de las variantes entre los pacientes pediátricos y en los adultos fue diferente destacando la mayor frecuencia de variantes en MCP (33%) en los primeros respecto a los segundos (3%). La distribución total y el tipo de variantes en los 37 pacientes estudiados se resumen en la tabla 7.

RESULTADOS

Tabla 7: Frecuencia y tipología de las variantes detectadas en los 37 pacientes estudiados genéticamente en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña según edad y sexo

Variante	Pediátricos	Adultos	Mujeres	Varones	Total
	n=6	n= 31	n=19	n=18	n=37
CFH (n,%)		4 (13)	2 (10)	2 (11)	4 (11)
CFHRs (n,%)		5 (16)	2 (10)	3 (17)	5 (13)
MCP (n,%)	2 (33)	1 (3)	1 (5)	2 (11)	3 (8)
C3 (n,%)		3 (10)	1 (5)	2 (11)	3 (8)
CFH+MCP (n,%)		1 (3)		1 (5)	1 (3)
MCP+CFI (n,%)	1 (17)	1 (3)	2 (10)		2 (5)
C3+MCP (n,%)		1 (3)		1 (5)	1 (3)
CFHR3-CFHR-4 (n,%)		1 (3)		1 (5)	1 (3)
CFD+C6+C7 (n,%)		1 (3)	1 (5)		1 (3)

7.5.3 Tipología y características de las variantes genéticas descritas por primera vez

Es importante destacar que en el 24% de los pacientes estudiados se encontraron 11 variantes no descritas previamente que constituyen el 33% de todas las halladas en la cohorte. Estas variantes no descritas se identificaron en MCP (tres), en CFH (dos), en CFHR1 (tres), en CFD (una), C6 (una) y C7 (una) tal y como se puede observar en la tabla 8.

RESULTADOS

Tabla 8: Edad, sexo, tipología de las variantes y haplotipos de riesgo en CFH y MCP de los nueve pacientes portadores de variantes descritas por primera vez en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña diagnosticados de SHUa

Paciente	Edad	Sexo	Variante	Haplotipo riesgo CFH	Haplotipo riesgo MCP
SHU34	34	Varón	CFH: exón 6, c. 704A>G*	no	Homocigosis
SHU48	33	Mujer	CFH: exón 14: c. 2540 A>T*	Heterocigosis	Homocigosis
SHU50	23	Varón	CFH: exón 23: c. 3643 G>A MCP: exón 3 c. 413 G>A*	Heterocigosis	no
SHU38	15	Mujer	MCP: promotor :c. 325 A>C*	Homocigosis	no
SHU18	35	Varón	MCP: Exón 2: C-186T>A*	Heterocigosis	no
SHU35	50	Varón	CFHR1:Exón 6: c. 868 T>G*	Heterocigosis	no
SHU27	49	Varón	CFHR1: Exón 6 :c. 869T>C*; c. 887C>T* CFH: Exón 9:c. 1231 T>A	Heterocigosis	no
SHU41	32	Mujer	CFHR1: Exón 6 : c. 869 T>C*; c. 887 C>T* CFH: Exón 9: c. 1231T>A	Heterocigosis	no
SHU44	17	Mujer	CFD: Exón 4; c.1561 C>A* C6; Intrón 16 ;c.2381C>A* C7;c.1561C>A*	no	no

*Variantes descritas por primera vez

7.5.3.1 *Variantes en MCP*

Las tres variantes en MCP no descritas previamente tienen las siguientes características : una de ellas es nonsense con un cambio en el exón 2 (c.186T>A) que provoca una interrupción de la secuencia de la proteína con una tirosina en la posición 69 ; las otras dos son missense y en una de ellas el cambio está en el exón 3 (c.413G>A) provocando un cambio de arginina por glutamina en la posición 103 de la secuencia proteínica y debe considerarse como patogénica porque afecta a un residuo de arginina ya reportado en otro paciente con SHUa (94). La otra variante reside en el promotor de MCP (c.325A>C) y debe considerarse de significado incierto en espera de estudios funcionales o de nuevas aportaciones procedentes de otros pacientes con SHUa.

7.5.3.2 *Variantes en CFH*

De las dos variantes en CFH no descritas previamente, una se localizó en el exón 6 con un cambio (c.704A>G) que provoca una sustitución de treonina por cisteína en la posición 235 del dominio CCP4 de la proteína y por tanto, con una alta probabilidad de ser patogénica lo que ha sido confirmado recientemente una vez realizados los estudios funcionales completos con las muestras de este paciente (171); la otra variante se localizó en el exón 14 con un cambio (c. 2540A>T) que modifica la secuencia de la proteína en la posición 847 al substituir glicina por valina en el dominio CCP14 por lo que podría ser calificada como probablemente patogénica a la espera de la realización de estudios funcionales.

7.5.3.3 *Variantes en CFHRs*

En dos pacientes se encontraron las mismas variantes patogénicas en CFHR1 asociadas a otra variante ya descrita como de significado incierto en CFH. Las dos variantes en CFHR1 se producen en el exón 6 (c. 869T>C; y c.887C>T) y modifican la secuencia de aminoácidos de la proteína en la porción C terminal al substituir leucina por serina en la posición 290 y alanina por valina en la posición 296, respectivamente. Las variantes en CFHR1 convierten a la proteína FHR1 en un competidor de FH por la fijación sobre la membrana celular alterando así la función reguladora de FH (149). Las variantes en CFHR1 se asociaron a otra variante de significado incierto en el exón 9 de CFH (c. 1231 T>A) la cual modifica la secuencia de proteína sustituyendo en la posición 411 serina por treonina (p Ser411Tre). Estos hallazgos se encontraron por primera vez en estos pacientes y en otros cuatro más, en una revisión reciente del registro español de SHUa, lo que sugiere que estas variantes en CFHR1 y CFH se heredan en un mismo haplotipo (149). La tercera variante en

CFHR1 no descrita previamente se localizó en el exón 6 con un cambio (c. 868 T>G) que modifica la secuencia de la proteína en la posición 290 al sustituir una leucina por valina y que, a la espera de la realización de estudios funcionales, debe clasificarse como de significado incierto.

7.5.3.4 Variantes en CFD, C6 y C7

Un paciente presentó una variante, previamente no descrita, en el exón 4 de CFD (c.1561 C> con un cambio en la secuencia de aminoácidos de la proteína al substituir en la posición 192 un arginina por una histidina (p.Arg192His). Este cambio no ha sido descrito, por lo que, en ausencia de estudios funcionales, debe ser considerado como incierto. Ese mismo paciente también es portador de otras dos variantes no descritas previamente en pacientes con SHUa : una de ellas localizada en el exón 11 de C7 (c.1561C>A) que induce un cambio en la posición 521 de la secuencia de aminoácidos de la proteína al substituir arginina por serina (descrito previamente en una familia irlandesa y en otras familias marroquíes de origen sefardita (222) o españolas (223) (224). La otra variante localizada en el intrón 16 de C6 (c.2381C>A) tampoco había sido descrita previamente en la literatura, aunque se ha reportado un cambio parecido en el exón 11 de C7 (c.1561C>A) que provoca un cambio de arginina por serina en la posición 521 de la proteína (222).

7.5.4 Delección CFHR1-CFHR3

Seis pacientes presentaron delección CFHR1-CFHR3, en un caso en homocigosis (en el paciente con variantes genéticas de significado incierto en CFD, C6 y C7), aunque sin autoanticuerpos anti FH. El resto de los pacientes presentaron el cambio en heterocigosis, en uno de ellos asociado a un gen híbrido (CFHR1-CFHR4) y en el otro a una variante patogénica en MCP (c.-251A>G;pHis84Arg).

7.5.5 Haplotipos de riesgo en CFH (H3) y MCP ggaac.

Todos los pacientes con variantes genéticas, excepto tres, tenían asociados haplotipos de riesgo en CFH o en MCP, en heterocigosis y homocigosis, aislados o combinados (Tabla 6). Es interesante destacar el hecho de que los 16 pacientes estudiados en los cuales no se identificó ninguna variante todos ellos, excepto uno, eran portadores de haplotipos de riesgo en CFH o MCP en heterocigosis y homocigosis, aislados o combinados (Tabla 9).

RESULTADOS

Tabla 9: Edad, sexo y haplotipos de riesgo en CFH y MCP de los 16 pacientes sin variantes genéticas identificadas diagnosticados de SHUa en el Hospital Universitario A Coruña

Código	Edad (años)	Sexo	Haplotipo riesgo CFH	Haplotipo riesgo MCP
SHU2	20	Mujer	Homocigosis	No
SHU4	6	Varón*	Heterocigosis	Homocigosis
SHU5	10	Varón*	no	No
SHU6	63	Mujer	Heterocigosis	Heterocigosis
SHU10	38	Varón	Heterocigosis	No
SHU13	51	Mujer	no	Homocigosis
SHU7	8	Mujer	no	Heterocigosis
SHU20	34	Mujer	Heterocigosis	Heterocigosis
SHU23	62	Varón	Heterocigosis	Heterocigosis
SHU37	31	Varón	no	Homocigosis
SHU40	29	Mujer	Homocigosis	Heterocigosis
SHU42	36	Mujer*	Homocigosis	No
SHU45	24	Varón	Heterocigosis	No
SHU46	38	Mujer	Heterocigosis	Homocigosis
SHU47	21	Mujer	no	Heterocigosis
SHU51	19	Mujer*	Heterocigosis	Homocigosis

*SHUa familiar

El 89% de los pacientes estudiados fueron portadores de haplotipos de riesgo en CFH y/o en MCP. De los cuatro pacientes sin haplotipos de riesgo en CFH o en MCP tres eran portadores de variantes (variante en CFH; c.3148A>T; variante en MCP: intrón 2, c.2872A>G+ variante en CFI: c.13G>A y variantes en CFD, C6 y C7) y solamente uno de ellos carecía también de variantes.

En los portadores de variantes la frecuencia de haplotipos de riesgo en CFH fue del 57% (47,6% en heterocigosis y 9,5% en homocigosis) y la de haplotipos de riesgo en MCP fue de 42,8% (23,8% en heterocigosis y 19% en homocigosis). En los pacientes sin variantes la frecuencia de haplotipos de riesgo en CFH fue de 68,7% (50% en heterocigosis y 18,7% en homocigosis) y de 68,7% en MCP (37,5% en heterocigosis y 31,25 en homocigosis).

7.6 ESTUDIOS FUNCIONALES

7.6.1 Valores plasmáticos de C3 y C4

Se dispuso de los valores plasmáticos iniciales de C3 y C4 en el 65% de los pacientes con estudios genéticos. Los valores plasmáticos de C3 y C4 fueron de $88,3 \pm 33,0$ mg/dL y de $23,3 \pm 17$ mg/dl, respectivamente. En el 46% se encontró hipocomplementemia C3 con valores plasmáticos de $61 \text{mg/dL} \pm 13$. El 64% de los pacientes con hipocomplementemia C3 eran portadores de variantes: tres en MCP (uno en forma combinada con CFH), uno en C3, uno en CFHR1, uno en CFHR2 y otro era portador de un gen híbrido CFHR3-CFHR4, todos ellos portadores, además, de algún haplotipo de riesgo en CFH o en MCP en heterocigosis u homocigosis (Tabla 10).

Tabla 10: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y valores plasmáticos de C3 y C4 en 11 pacientes con hipocomplementemia C3, con SHUa, de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Código	Variantes	Haplotipo riesgo CFH	Haplotipo riesgo MCP	C3 79 -210 mg/dL	C4 14-47 mg/dL
SHU1	MCP:c.251A>G	No	Heterocigosis	61	29
SHU6	Ausente	Heterocigosis	Heterocigosis	54	16
SHU11	C3: c.1855G>A	No	Heterocigosis	51,3	12
SHU19	Ausente	Heterocigosis	No	59	6,5
SHU20	Ausente	Heterocigosis	Heterocigosis	68,5	11
SHU25	CFHR2: c.325A>G	Heterocigosis	No	64,2	12,1
SHU26	Gen híbrido CFHR3-CFHR4	Heterocigosis	Heterocigosis	67,6	23,2
SHU27	CFHR1: c. 869T>C; c. 887c>T) CFH c. 1231 T>A	Heterocigosis	No	64	12
SHU38	MCP: c. 325 A>C	Homocigosis	No	70,6	20,7
SHU40	Ausente	Homocigosis	Heterocigosis	47,1	27,8
SHU50	CFH: c. 3644 G>A MCP: c.308 G>A	Heterocigosis	Heterocigosis	59	6

De los cuatro pacientes con hipocomplementemia C3 no portadores de variantes, todos, eran portadores de haplotipos de riesgo en CFH o en MCP. Es destacable que en dos

pacientes la hipocomplementemia C3 se acompañó de un descenso concomitante inicial significativo de C4.

7.6.2 Valores plasmáticos de FH y FI

El factor H se determinó en el 86% de los pacientes con estudios genéticos. Los valores plasmáticos fueron $20,7 \pm 9,3$ mg/dL. En el 12% se encontraron valores de FH por debajo de los valores de referencia (Tabla 11). Dos de esos pacientes eran portadores de variantes en CFH, otro era portador de variante en CFHR1 asociada a CFH y el otro era portador de una variante en MCP asociada a otra variante en CFI. Es resaltable el hecho de que todos, excepto uno de ellos, portador de una variante en CFH, eran portadores del haplotipo de riesgo CFH en heterocigosis.

Tabla 11: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y valores plasmáticos de FH en cuatro pacientes con valores plasmáticos de FH inferiores a los valores normales de referencia de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Código	Variante	Haplotipo CFH	Haplotipo MCP	FH 12-56 mg/dL
SHU34	CFH: c. 704A>G	No	Homocigosis	10,7
SHU48	CFH: c. 2540 A>	Heterocigosis	Homocigosis	8,6
SHU22	MCP: c. 286 + 2T>G) CFI: c. 1534 + G>T	Heterocigosis	Homocigosis	10,8
SHU27	CFHR1:c. 869T>C c. 887C>T CFH: c. 1231 T>A; p	Heterocigosis	No	7,2

El factor I se determinó en el 73% de los pacientes con estudios genéticos y solamente se encontró por debajo de los niveles normales (71-115%) en dos pacientes; ambos portadores de variantes en MCP, uno de ellos con una variante aislada (MCP: c. 325 A>C) y en otro combinada con una de significado incierto en factor I (MCP:c. 286 + 2T>G ; factor I c.1534G>T) .Este último paciente presentaba, además, valores bajos en CFH y en la expresión de MCP (tablas 11 y 12).

7.6.3 Expresión de MCP en linfocitos en sangre periférica

La expresión de MCP en linfocitos en sangre periférica se determinó en el 78% de los pacientes con estudios genéticos. El 14% presentaron valores por debajo del límite de referencia: tres portadores de variantes en MCP, en forma aislada en un caso, y asociada a CFI o a CFH en los otros dos, respectivamente. El otro paciente con expresión disminuida de MCP era portador de una variante en CFH. Además, dos de los pacientes eran portadores de haplotipo de riesgo en MCP en homocigosis.

Tabla 12: Tipología de las variantes genéticas, haplotipos de riesgo y expresión de MCP en linfocitos de sangre periférica en cuatro pacientes con valores de MCP inferiores a los normales de referencia de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Código	Variante	Haplotipo	Haplotipo	MCP
		CFH	MCP	91-109%
SHU22	MCP: c. 286 + 2T>G) CFI: c. 1534 + G>T	Heterocigosis	Homocigosis	57%
SHU48	CFH: c. 2540 A>	Heterocigosis	Homocigosis	86%
SHU18	MCP:c.186T>A;p.Tyr62	Heterocigosis	No	56%
SHU50	CFH: c. 3644 G>A MCP: c. 308 G>A	Heterocigosis	No	51%

7.7 NORMALIZACIÓN HEMATOLÓGICA

El 94% de los pacientes consiguieron la recuperación hematológica al año del episodio inicial, incluido un paciente que falleció en la segunda semana del trasplante a consecuencia de una sepsis. La mediana de tiempo para la recuperación hematológica fue de 28 días si bien hasta en una cuarta parte de los pacientes el tiempo para la recuperación superó los 60 días (RIQ= 10-60) (fig 11).

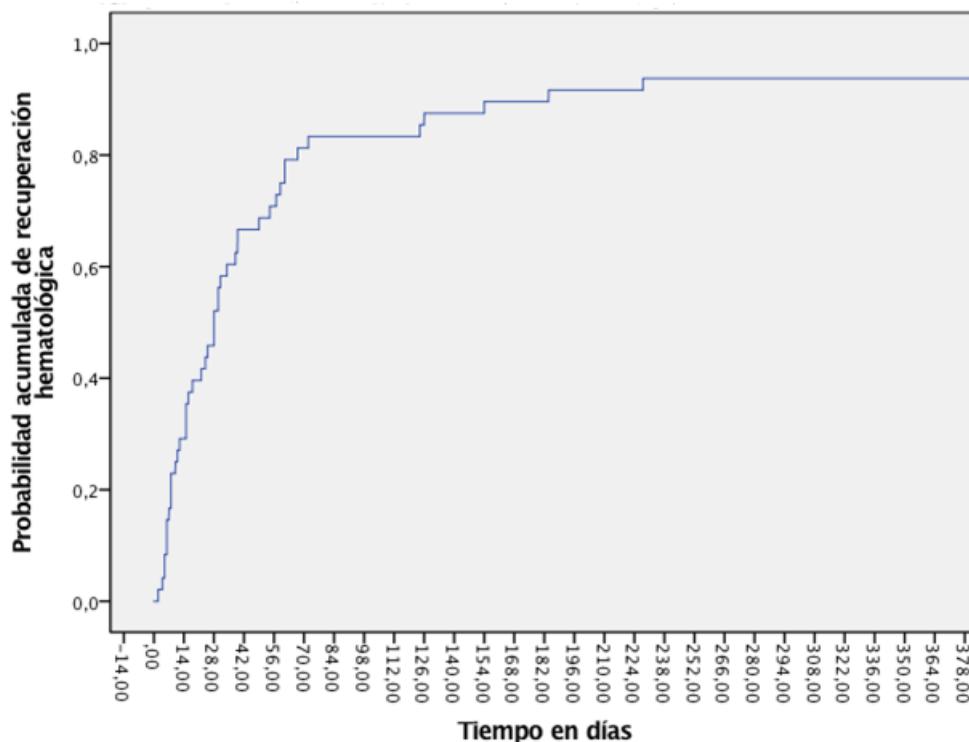


Figura 11. Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Quando se hizo un análisis univariante de las diferencias de riesgo y de las tasas instantáneas (hazards) de normalización hematológica mediante la técnica univariada de regresión de Cox, se comprobó que los portadores de variantes en CFH y los pacientes adultos presentaban tasas instantáneas de riesgo para la recuperación hematológica menores que los no portadores (HR=0,2; IC95%=0,06-1) o que los pediátricos/adolescentes (HR=0,4; IC95%=0,2-0,9), respectivamente (tabla 13). No se encontraron diferencias significativas en relación con el sexo o con el carácter esporádico o familiar del SHUa

RESULTADOS

Tabla 13: Frecuencia de recuperación hematológica y hazard ratio (IC95%) según edad, sexo, tipo de variante genética y carácter familiar de 48 pacientes de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña con SHUa

Característica	Sí	No	HR (IC-95%)
Edad ≥ 16 años	92% (37/40)	100% (8/8)	0,4 (0,2-0,9)
Mujer	96% (24/25)	91% (21/23)	1,2 (0,6-2,1)
Variante en CFH	50% (2/4)	98% (43/44)	0,2 (0,06-0,9)
Variante en CFHRs	100% (6/6)	93% (39/42)	1,1 (1,-1,2)
Variante en MCP	86% (6/7)	95% (39/41)	0,8 (0,3-1,9)
Variante en C3	100% (4/4)	95% (41/44)	1,1 (1-1,2)
Familiar	86% (6/7)	95% (39/41)	0,8 (0,3-1,8)

Quando se estimó la probabilidad de recuperación hematológica con la técnica de Kaplan-Meier se obtuvieron los mismos resultados con una probabilidad de recuperación más tardía en los portadores de CFH (Log-Rank=4,2; p=0,040) (Fig. 12) y en los pacientes adultos (Log-Rank=4,5; p=0,030) (Fig. 13)

RESULTADOS

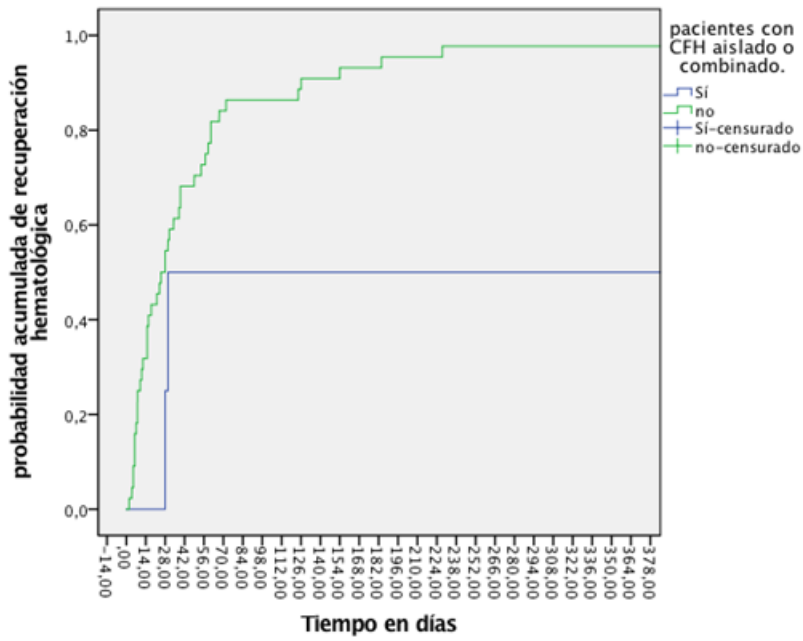


Figura 12: Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier según sean o no portadores de variantes de CFH, en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

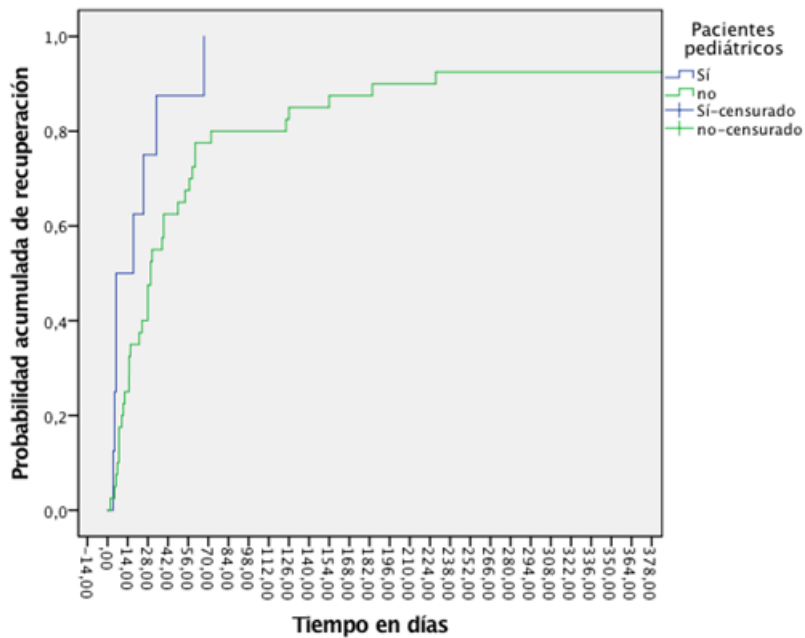


Figura 13: Probabilidad de recuperación hematológica por Kaplan-Meier según la edad, en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

RESULTADOS

La recuperación hematológica después de la administración de eculizumab se calculó a partir del momento de su administración, excluyendo a un paciente en el que el fármaco se utilizó cuando ya había conseguido la normalización hematológica. La recuperación hematológica también fue más precoz en los pacientes tratados con este fármaco que con plasmaterapia exclusivamente.

Por otra parte, hay que destacar que los pacientes que no consiguieron la normalización hematológica tampoco recuperaron la función renal y, habiendo requerido diálisis como tratamiento inicial, permanecieron en tratamiento substitutivo finalmente.

7.8 AFECTACIÓN RENAL

La afectación inicial de los pacientes y la evolución de su función renal al año del diagnóstico se puede observar en la figura:



Figura 14: Evolución de la función renal al año y éxito según requerimiento de diálisis a la presentación en los 48 pacientes con SHUA de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Las diferencias por edad y sexo sobre la incidencia de fracaso renal agudo con necesidad de diálisis ya se presentaron en la sección de características basales.

Al analizar el impacto las variantes genéticas en el requerimiento de diálisis durante el episodio inicial, se comprobó que los portadores de variantes en CFH tuvieron un riesgo significativo de manifestarse en esa situación. En efecto, el 100% de los portadores de esas variantes debutaron con fracaso renal agudo frente a 33 de 44 (75%; IC 62-88%) en los no portadores. La magnitud del efecto de ser portador de la variante en CFH para la incidencia

RESULTADOS

de fracaso renal agudo fue significativa con un incremento del riesgo absoluto del 25% (IC95%: 12-38%) y un 1,3 (IC95% 1,1-1,6) de riesgo relativo, respecto a los no portadores.

En el resto de las variantes los resultados no alcanzaron significación estadística (Tabla 14).

Tabla 14: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de fracaso renal agudo con necesidad de diálisis según tipo de variantes genéticas portadas en los 48 pacientes de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

Característica	Sí	No	RAR (IC95%)	RR (IC95%)
Variante en CFH	100% (4/4)	75% (33/44)	-0,25 (-0,38 a - 0,12)	1,33 (1,12- 1,58)
Variante en CFHRs	83% (5/6)	76% (32/42)	-0,07 (-0,40 a 0,25)	1,09 (0,74- 1,62)
Variante en MCP	71% (5/7)	78% (32/41)	0,07 (-0,29 a 0,42)	0,92 (0,56- 1,50)
Variante en C3	50% (2/4)	80% (35/44)	0,30 (-0,21 a 0,80)	0,63 (0,23- 1,69)

7.8.1 Evolución de la enfermedad renal al año del episodio inicial

Al año del diagnóstico 52% de los pacientes recuperaron íntegramente la función renal; 14% la recuperaron parcialmente permaneciendo en insuficiencia renal crónica progresiva y un paciente falleció por sepsis, en diálisis, en la primera semana de su episodio. 31% perdieron la función renal definitivamente y entraron en un programa de diálisis.

Todos los pacientes que recibieron eculizumab en segunda línea de tratamiento pudieron abandonar la diálisis y al año del diagnóstico el 80% habían recuperado íntegramente la función renal; el único paciente que no tuvo recuperación íntegra de función renal permaneció en situación de insuficiencia renal crónica al año del diagnóstico, sin precisar tratamiento sustitutivo.

7.8.2 Recuperación de la función renal íntegra o parcial

La recuperación íntegra de la función renal se produjo en 17 de 37 (46%; IC95% 30-62%) pacientes que habían precisado de diálisis inicial y en ocho de 11 (73%; IC95 46-90%) pacientes que no precisaron de ese tratamiento. Todos los pacientes alcanzaron unos valores plasmáticos de creatinina inferiores a 1,5 mg/dL en un tiempo de Md=31 días, RIQ=(30-91). El tiempo para la recuperación renal fue de 31 días (22-45) para los pacientes que necesitaron diálisis y de 16 días (7-92) para los que no la precisaron, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,700$) (Fig. 15).

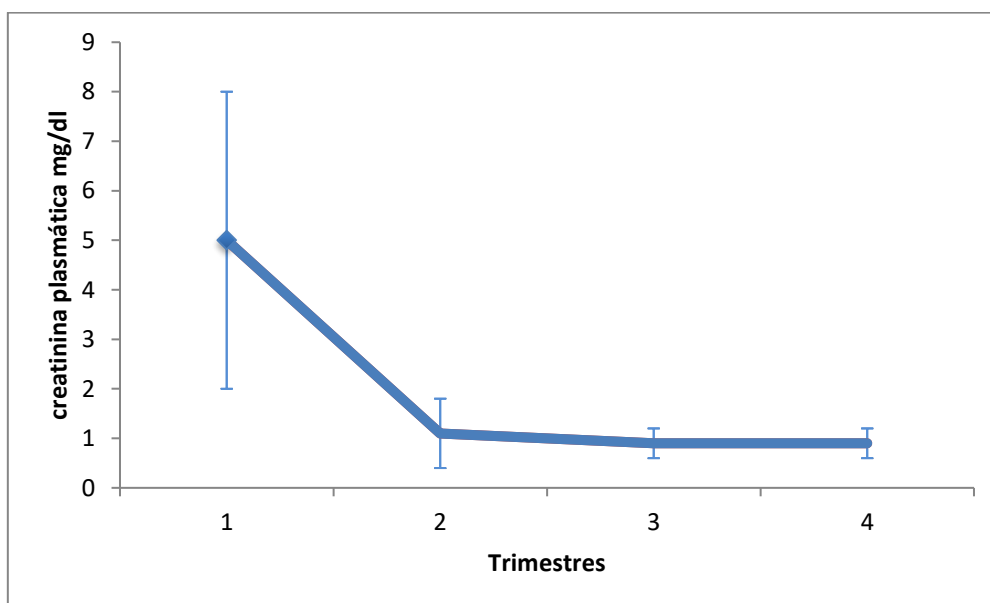


Figura 15: Evolución trimestral de los valores (media y DT) de la creatinina plasmática en los 25 pacientes con recuperación íntegra de la función renal al año del episodio inicial

Los pacientes que habían precisado de diálisis y recuperaron íntegramente la función renal permanecieron más días en tratamiento dialítico (Md=11 días; RIQ=7-19 días vs Md=8 días; RIQ=5-26 días; $p=0,500$) y en plasmaterapia (Md=11 días; RIQ=7-19 días vs Md=6 días; RIQ=3-25 días; $p=0,300$) que los pacientes que quedaron en situación de insuficiencia renal crónica, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla 15).

Los pacientes que abandonaron la diálisis por recuperación parcial de la función renal mantuvieron valores de creatinina plasmática elevados Md=3,8 mg/dl, RIQ= (1,7-12) lo que explica la ulterior progresión de todos ellos a insuficiencia renal terminal.

RESULTADOS

Tabla 15: Tiempo de permanencia en diálisis y en plasmaterapia y valores plasmáticos de creatinina (mediana y rango intercuartil) y fracaso renal agudo en los 21 pacientes que pudieron abandonar el tratamiento substitutivo por recuperación completa o parcial de la función renal con diagnóstico de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

	Recuperación completa n=17	Insuficiencia Renal Crónica n=4	P
Días de diálisis	11 (7-19)	8 (5-26)	Ns
Días de plasmaterapia	11 (7-19)	6 (3-25)	Ns
Creatinina plasmática mg/dl	0,9 (0,8-1,2)	3,8 (1,7-12)	0,04

Cuando se analizaron los factores que, como la edad al inicio , el sexo , el tipo de variante genética presente en los pacientes y el carácter familiar o esporádico del SHUa ,podían influir en la recuperación de la función renal se comprobó que el inicio del SHUa en la edad adulta, el ser portador de variantes en CFH o en CFHRs y , en menor medida el debut con fracaso renal agudo y necesidad de diálisis, comprometieron la posibilidad de obtener una recuperación completa de la función renal (Tabla 16).

En efecto, solo 18 de 40 (45%; IC95%: 30%-60%) de los pacientes diagnosticados en la edad adulta recuperaron íntegramente la función renal frente a siete de ocho (88%; IC 95%: 65%-110%) pacientes pediátricos que sí lo hicieron. Eso supone para los pacientes adultos una reducción significativa en el riesgo absoluto y un riesgo relativo de recuperar íntegramente la función renal del 43% (IC95%:15%-70%) y de 51% (IC95%:33%-79%), respectivamente.

Ninguno de los cuatro portadores de variantes en CFH consiguió la recuperación completa de la función renal frente a 25 de 44 (57%; IC95%: 42%-71%) de los no portadores de esta variante que sí lo hicieron. Eso supuso un incremento significativo en el riesgo absoluto de recuperar íntegramente la función renal en los no portadores respecto a los portadores de la variante del 57% (IC95%:42%-71%). Igualmente, ninguno de los seis portadores de variantes en CFHRs recuperan la función renal íntegramente frente a los 25 de 42 de los no portadores de esas variantes que sí lo hicieron. En este caso el incremento en el riesgo absoluto de recuperar totalmente la función renal en los no portadores de las variantes respecto a los portadores también fue significativa (60%; IC95%:45%-74%).

RESULTADOS

El 46% de los pacientes que precisaron de diálisis recuperaron íntegramente la función renal frente al 73% de los que no la precisaron. Es decir, el descenso del riesgo absoluto y el riesgo relativo para la recuperación total en los que necesitaron de diálisis fue de 27% (IC95%: -4% a 58%) y de 0,63 (0,38-1) respectivamente.

Tabla 16: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de recuperación completa de la función renal, según edad, sexo, diálisis inicial, variantes genéticas y carácter familiar en la cohorte de 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña

Característica	Sí	No	RAR (IC95%)	Riesgo relativo (IC95%)
Edad ≥ 16 años	45% (18/40)	88% (7/8)	0,43 (0,15 a 0,70)	0,51 (0,33-0,79)
Mujer	56% (14/25)	48% (11/23)	-0,08 (-0,36 a 0,20)	1,17 (0,68-2,03)
Diálisis inicial	46%(17/37)	73%(8/11)	0,27(-0,04 a 0,58)	0,63 (0,38-1,04)
Variante en CFH	0%(0/4)	57% (25/44)	0,57 (0,42 a 0,71)	0
Variante en CFHRs	0 % (0/6)	60% (25/42)	0,60 (0,45 a 0,74)	0
Variante en MCP	57% (4/7)	51% (21/41)	-0,06 (-0,46 a 0,34)	1,12 (0,55-2,26)
Variante en C3	50% (2/4)	52% (23/44)	0,02 (-0,49 a 0,53)	0,96 (0,34-2,65)
Familiar	43% (3/7)	54% (22/41)	0,11 (-0,29 a 0,51)	0,80 (0,32-1,97)

7.8.3 Entrada definitiva en diálisis

Después del primer año, y excluyendo al paciente fallecido sin abandonar la diálisis, un total de 24 (48%) pacientes habían entrado en tratamiento substitutivo, porque, además de los quince que habían entrado definitivamente en diálisis durante el primer año de seguimiento, se incorporaron los siete que habían permanecido con Insuficiencia renal crónica y otros dos que, habiéndola recuperado íntegramente después del primer episodio, perdieron la función renal por recidiva.

RESULTADOS

Cuando se analizaron los factores que, como la edad al inicio, el sexo, el tipo de variante genética presente en los pacientes y el carácter familiar o esporádico del SHUa, podían influir en la recuperación de la función renal se comprobó que la recuperación parcial de la función renal después episodio inicial y el ser portador de variantes en CFH o en CFHRs fueron factores asociados significativamente con la entrada definitiva en diálisis (Tabla 17).

Tabla 17: Riesgo absoluto, reducción absoluta del riesgo (RAR) y riesgo relativo de entrada definitiva en diálisis de los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Característica	Sí	No	RAR (IC95%)	Riesgo relativo (IC95%)
Edad ≥ 16 años	55% (22/40)	25% (2/8)	-0,30 (-0,64 a 0,04%)	2,20 (0,64-7,55)
Mujer	52% (13/25)	48% (11/23)	-0,04 (-0,32 a 0,24)	1,09 (0,62-1,92)
Diálisis al inicio	51% (19/37)	27 % (3/11)	-0,24 (-0,55 a 0,07)	1,88 (0,68-5,19)
Recuperación parcial de la función renal	100% (7/7)	8 % (2/25)	-0,08 (-0,03 a -0,19)	12,50 (3,31-47,23)
Variante en CFH	100% (4/4)	45 % (20/44)	-0,55 (-0,69 a -0,40)	2,20 (1,59-3,04)
Variante en CFHRs	100% (6/6)	43% (18/42)	-0,57 (-0,72 a -0,42)	2,33 (1,65-3,31)
Variante en MCP	43% (3/7)	51% (21/41)	0,08 (-0,31 a 0,48)	0,84 (0,34-2,07)
Variante en C3	50% (2/4)	50% (22/44)	0 (-0,51 a 0,51)	1 (0,36-2,78)
Familiar	57% (4/7)	49% (20/41)	-0,08 (-0,48 a 0,31)	1,17 (0,57-2,39)

En efecto, los siete (100%) pacientes que permanecieron en situación de insuficiencia renal crónica después del primer episodio entraron en diálisis frente a solamente dos (por recidiva) (8%; IC95% -3% a 19%) de los 25 que recuperaron la función renal íntegramente. Por consiguiente, la magnitud del efecto de la permanencia en insuficiencia renal crónica en el incremento del riesgo absoluto (92%; IC95% 81%-97%) y en el riesgo relativo (12,5; IC95%:3,31-47,23) fueron clínicamente importantes y estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Los cuatro (100%) portadores de variantes en CFH entraron definitivamente en diálisis frente a 20 de 44 (45%; IC95%: 31%-60%) lo que supone también un incremento del riesgo absoluto (55%; IC95%: 40%-60%) y del riesgo relativo (2,2; IC95%: 1,59-3), clínica y estadísticamente significativos, en los portadores sobre los no portadores de la variante.

Los seis (100%) portadores de variantes en CFHRs entraron definitivamente en diálisis frente a 18 de 42 (43%; IC95%: 28%-52%) lo que supone también un incremento del riesgo absoluto (57%; IC95%: 42%-72%) y del riesgo relativo (2,33; IC95%: 1,65-3,31), clínica y estadísticamente significativos, en los portadores sobre los no portadores de la variante.

Se implementa un modelo de regresión de Cox multivariable con el objetivo de controlar los posibles factores de confusión (edad) y tras el ajuste se comprobó que el ser portador de la variante CFH y CFHRs incrementa significativamente el riesgo de entrada definitiva en diálisis HR 3,572 (IC 95%:1,092-11,684) y HR 3,489 (IC 95%: 1,240-9,817) respectivamente (Tabla 18).

Tabla 18: Cálculo de HR e IC 95% según modelo de regresión de Cox para ajustar entrada definitiva en diálisis según edad y variantes patogénicas en CFH-CFHRs

	Coeficiente	Error standard	p	HR	Intervalo de confianza 95%	
					Inferior	Superior
Adultos	0,652	0,776	0,401	1,920	0,419	8,789
Variantes en CFH	1,273	0,605	0,035	3,572	1,092	11,684
Variantes en CFHRs	1,250	0,528	0,018	3,489	1,240	9,817

7.8.4 Tratamiento con eculizumab

Por su importancia terapéutica, se analizó el impacto del tratamiento con eculizumab sobre la función renal en cuanto a la salida de diálisis, a la recuperación íntegra de la función renal y sobre la supervivencia renal en los cinco pacientes tratados con este fármaco “en segunda línea” frente a los tratados con plasmaterapia exclusivamente.

RESULTADOS

Los cinco pacientes tratados con eculizumab precisaban diálisis en el momento de su administración. Con el tratamiento, el 100 % pudieron abandonarla, frente a 16 de 32 (50 %; IC95%: 36%-67%) pacientes tratados con plasmaterapia exclusivamente que no pudieron hacerlo. Eso supone un incremento significativo en el riesgo absoluto del 50% (IC95%: 33%-67 %) y del riesgo relativo de 2 (IC95%: 1,41-2,83) de abandonar la diálisis en los pacientes tratados con eculizumab frente a los pacientes tratados exclusivamente con plasmaterapia. En consecuencia, el número necesario de pacientes a tratar con eculizumab para posibilitar un abandono de diálisis fue de 2 (IC95%: 1,49-3,06) (Tabla 19).

De los cinco pacientes tratados con eculizumab, cuatro (80%; IC95%: 45%-115%) recuperaron íntegramente la función renal frente a 21 de 43 (49%; IC95%: 34%-64%) de los tratados con plasmaterapia exclusivamente. Por tanto, los pacientes tratados con eculizumab tuvieron un incremento en el riesgo absoluto del 31% (IC95%: 69% a -7%) y de 1,64 (IC95%: 0,96-2,80) en el riesgo relativo para recuperar la función renal con integridad respecto a los tratados con plasmaterapia exclusivamente.

Para valorar mejor el efecto de eculizumab sobre la recuperación de la función renal íntegramente se excluyó del análisis al paciente con nefropatía crónica que recibió tratamiento con eculizumab para controlar sus manifestaciones neurológicas en el momento de iniciar diálisis definitiva. En estas circunstancias, los cuatro pacientes tratados con eculizumab recuperaron íntegramente la función renal frente a los 21 de 43 (49%; IC95%: 34%-64%) de los tratados con plasmaterapia exclusivamente. Los pacientes tratados con eculizumab incrementaron significativamente el riesgo absoluto en 51% (IC95%: 33%-66%) y el riesgo relativo de 2.05 (IC95%: 1,51-2,78) para la recuperación completa de la función renal respecto a los tratados con plasmaterapia exclusivamente. El número necesario de pacientes a tratar para la recuperación íntegra de la función renal fue de 1,96 (IC95%: 1,51-2,76)

Tabla 19: Riesgo absoluto, reducción de riesgo absoluto (RAR), riesgo relativo y número de pacientes necesarios a tratar para reducir un evento de pérdida de la función renal al año del diagnóstico tratados con eculizumab vs plasmaterapia, en 48 pacientes con SHUa del Hospital Universitario A Coruña

RA	RRA (IC95%)	RR (IC95%)	NNT (IC95%)
----	-------------	------------	-------------

RESULTADOS

Salida de diálisis	100%	50% (33-67%)	2 (1,41-2,83)	2 (1,49-3,06)
Recuperación íntegra de la función renal	80%	31% (6 a - 7%)	1,64 (0,96-2,80)	
Recuperación íntegra de la función renal*	100%	51% (33-66%)	2,05 (1,51-2,78)	1,96 (1,51-2,76)

*Excluyendo en el análisis al paciente con insuficiencia renal crónica severa previa al inicio de tratamiento con eculizumab

7.8.5 Supervivencia renal

La supervivencia renal de los pacientes no trasplantados a uno, cinco y diez años fue de 56% (24 pacientes en riesgo), 53% (19 pacientes en riesgo) y 50% (16 pacientes en riesgo), respectivamente (fig. 16).

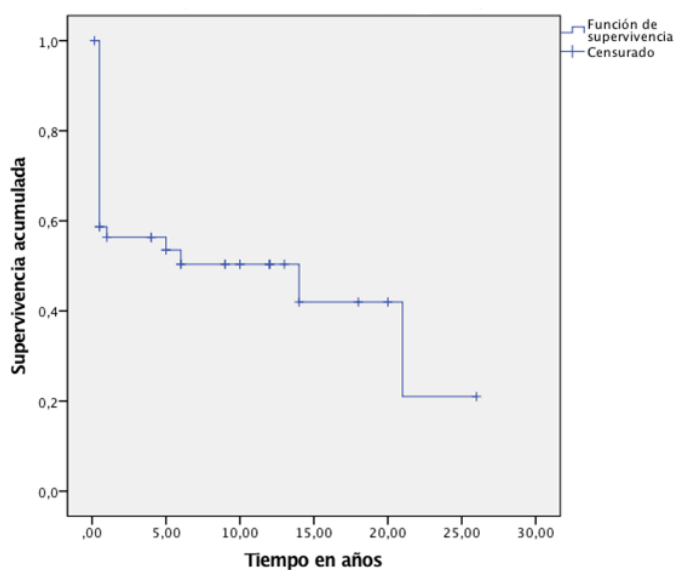


Figura 16: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier en 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

RESULTADOS

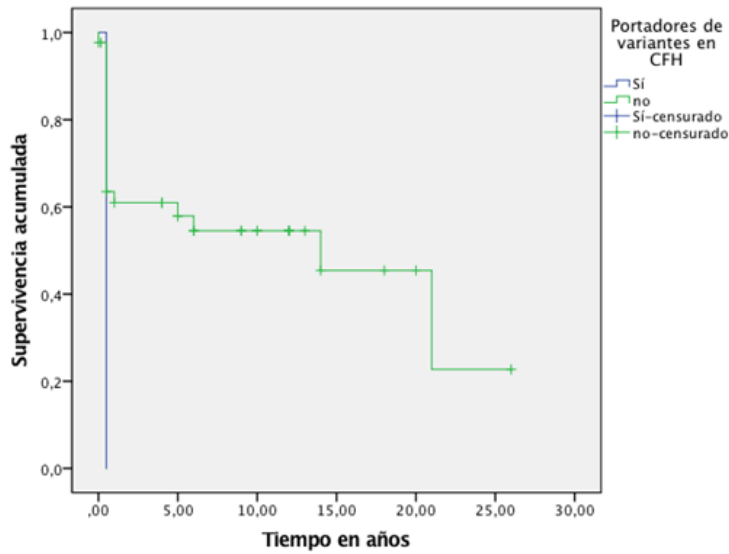


Figura 17: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según sean o no portadores en CFH en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

La supervivencia renal fue claramente inferior en los pacientes portadores de variantes en CFH (0% vs 61% y 56%) (Log-Rank=6,1p=0,010) (figura 17) y en los portadores de variantes en CFHRs (0% vs 64% y 61%) (log-rank=9,1; p=0,003) (Figura18)

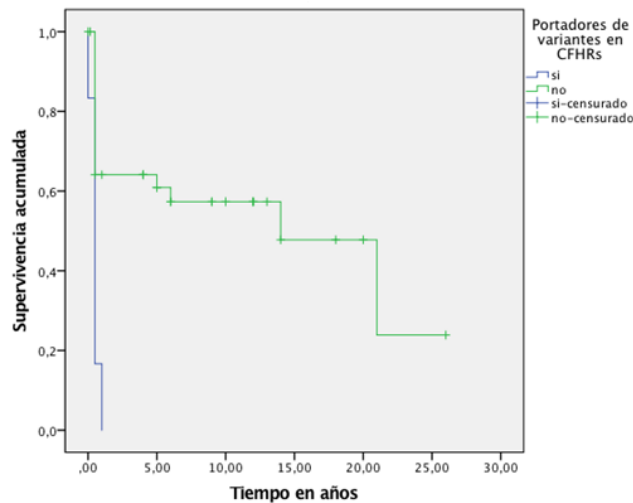


Figura 18: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según sean o no portadores en CFHRs en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

RESULTADOS

La supervivencia renal a uno y cinco años fue superior en los pacientes tratados con eculizumab que en los tratados con plasmaterapia exclusivamente (80% y 80% vs 53% y 51%) (Log Rank=0,6;p=0,400) (Fig. 19); en los pacientes pediátricos que en los adultos (100% y 86% vs 50% y 47%) (Log-Rank=2,4,p=0,100); en los portadores de MCP (86% y 64% vs 51% y 48%) (p=0,600) y similar en las mujeres y en los varones (56,5%; y 51% vs 59% y 55%;Log Rank=0,2;p=0,700).

7.8.6 Hipertensión arterial

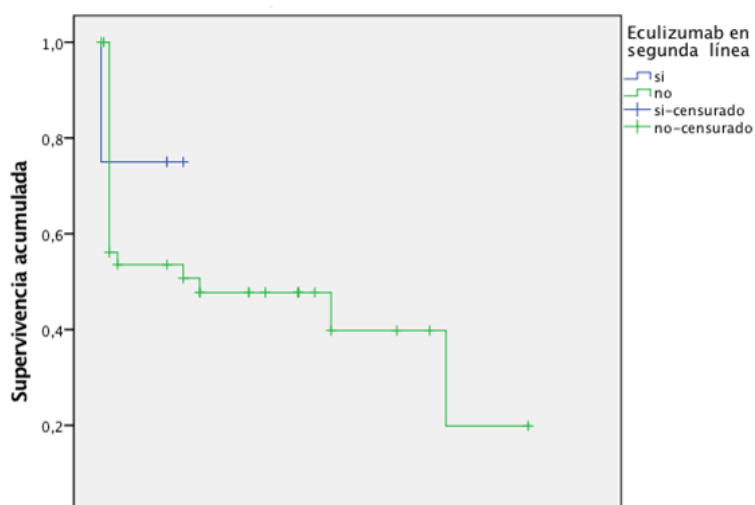


Figura 19: Probabilidad de supervivencia renal por Kaplan-Meier según tratamiento con eculizumab o plasmaterapia en los 48 pacientes con SHUa de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

Con objeto de eliminar otros factores concurrentes que pudieran explicar la hipertensión arterial después del episodio inicial de SHUa, se analizó su prevalencia al final del seguimiento solo en los 23 pacientes, que habiendo recuperado la función renal íntegramente, no la perdieron posteriormente a consecuencia de recidiva. Es decir, se excluyeron a los pacientes en programa de diálisis y a los receptores de un trasplante renal con el injerto funcionante.

13 de 23 (57%; IC95%: 36%-77%) de los pacientes que habían recuperado y mantenido la función renal íntegramente presentaban hipertensión arterial con necesidad de medicación, incluyendo a un paciente diagnosticado en edad pediátrica que había cursado sin hipertensión en el momento inicial. Aunque la prevalencia de hipertensión arterial en este grupo de pacientes fue superior en los adultos (61%) que en los diagnosticados en la edad pediátrica (40%) y en los varones (60%) que en las mujeres (54%) estas diferencias no fueron ni clínica ni estadísticamente significativas. (Tabla 20)

RESULTADOS

Los cinco pacientes tratados con eculizumab permanecieron hipertensos al final del seguimiento.

Tabla 20: Prevalencia de hipertensión arterial al final del seguimiento en la población según edad y sexo en la cohorte de 48 pacientes con diagnóstico de SHUa del Hospital Universitario A Coruña

		RRA (IC95%)	RR (IC95%)
Edad=>16	61% (39-84%)	-0,21 (-0,70 a 0,27)	1,53 (0,49 -4,75)
Edad=<16	40% (-0,03 a 83%)		
Varones	60% (30-90%)	-0,06 (-0,47 a 0,35)	1,1 (0,55-2,27)
Mujeres	54% (27-81%)		

7.9 RECIDIVA

El 35% de los pacientes experimentaron recidiva de su enfermedad después del episodio inicial, bien en los riñones nativos (n=10) o en el injerto trasplantado (n=7). Un paciente experimentó recidiva antes y después del trasplante. Por tanto, la recidiva se presentó en el 21% de los casos en los riñones nativos; en el 20% en pacientes que habían recuperado la función renal íntegramente después del primer episodio; en el 43% de los pacientes en situación de insuficiencia renal crónica al año del episodio inicial y en el 8% cuando ya estaban en tratamiento en diálisis de forma definitiva. Por otra parte, el 10% de los pacientes experimentaron un segundo episodio de recidiva.

Los episodios de recidiva en los riñones nativos fueron tardíos, solo dos pacientes la experimentaron a los tres meses del episodio inicial quedando en situación de insuficiencia renal crónica a consecuencia de ello, mientras que los cinco pacientes que la presentaron después de haber recuperado la función renal íntegramente la experimentaron mucho más tardíamente (Md= 83 meses; RIQ=46-128 meses).

Los episodios de recidiva conllevaron la pérdida total de función renal en dos de cinco pacientes que la habían recuperado íntegramente después de primer episodio como consecuencia de una segunda recidiva. Otros dos pacientes en situación de insuficiencia renal crónica secundaria al episodio de SHUa perdieron definitivamente la función renal a consecuencia de recidiva de la enfermedad.

RESULTADOS

Cuando se analizaron los factores que podrían condicionar la incidencia de episodios de recidiva se comprobó que los pacientes diagnosticados en edad pediátrica, y los portadores de variantes en MCP se asociaron a una mayor frecuencia de recidivas, Por el contrario, el tratamiento con eculizumab evitó la recidiva en todos los pacientes tratados con el fármaco. (Tabla 21)

Cuatro de ocho (50%; IC95%: 15%-85%) de los pacientes diagnosticados en edad pediátrica presentaron episodios de recidiva frente a 6 de 40 (15 %; IC95%:4%-26%) lo que supuso un incremento del riesgo absoluto (35%; IC95: 29%-99%) y del riesgo relativo (3,33; IC95%:1,21-9,17) de presentar recidiva, respecto a los pacientes diagnosticados en la edad adulta, clínica y estadísticamente significativos.

Cuatro de siete (57%; IC95%:20%-54%) portadores de variantes en MCP presentaron episodios de recidiva frente a 6 de 41 (15%; IC95%:4%-25%) en los no portadores lo que supone un incremento en el riesgo absoluto (43%; IC95%:4%-81%) y en el riesgo relativo (3,9; IC95%:1,47-10,39) de presentar recidiva, clínica y estadísticamente significativos en los portadores de la variante.

No se encontraron diferencias en la incidencia de recidiva entre mujeres y varones ni entre los que presentaron el síndrome de forma esporádica o familiar.

Cuando se analizó el impacto del tratamiento con eculizumab sobre la frecuencia de recidivas se comprobó que ninguno de los pacientes tratados con ese fármaco sufrió ningún episodio ya que todos ocurrieron en diez de los 43 (23%; IC95%: 11%-36%) pacientes tratados con plasmaterapia exclusivamente. Es decir, el tratamiento con eculizumab redujo el riesgo absoluto de recidiva en 23% (IC95:11%-36%).

RESULTADOS

Tabla 21: Riesgo absoluto, reducción de riesgo absoluto (RAR) y riesgo relativo de recidiva de SHUa en riñones nativos según edad, sexo, características genéticas y presentación familiar o esporádica y tratamiento con eculizumab/plasmaterapia de la cohorte del Hospital Universitario de A Coruña

Característica	Sí	No	RAR (IC95%)	Riesgo relativo (IC95%)
Edad ≤16 años	50% (4/8)	15% (6/40)	-0,35 (-0,71 a 0,01)	3,3 (1,2-9,2)
Mujer	20% (5/25)	22% (5/23)	0,02 (-0,21 a 0,25)	0,9 (0,3-2,7)
Variante en CFH	25% (1/4)	24% (9/44)	-0,05 (-0,49 a 0,40)	1,2 (0,2-7,3)
Variante en CFHRs	17% (1/6)	21% (9/42)	0,05 (-0,28 a 0,37)	0,8 (0,1-5,1)
Variante en MCP	57% (4/7)	15% (6/41)	-0,43 (-0,81 a -0,04)	3,9 (1,5-10)
Variante en C3	25% (1/4)	20% (9/44)	-0,05 (-0,49 a 0,40)	1,4 (0,2-12)
Familiar	29% (2/7)	19% (8/41)	-0,09 (-0,45 a 0,27)	1,5 (0,4-5,5)
Eculizumab+PF/IP	0% (0/5)	23% (10/43)	0,23 (0,11 a 0,36)	-

7.10 TRASPLANTE RENAL

Se realizaron 26 trasplantes renales: 23 de donante cadáver y 3 de donante vivo a 19 receptores, es decir al 39% de la población inicial de la cohorte y al 79% de los pacientes que entraron en tratamiento substitutivo. 74% pacientes recibieron un injerto, 16% se trasplantaron en dos ocasiones y otro 10% recibieron tres injertos sucesivos.

7.10.1 Características basales

Todos los pacientes trasplantados fueron adultos, porque dos de ellos diagnosticados en edad pediátrica, con 14 y 15 años, se trasplantaron con 34 y 21 años, respectivamente. La edad media \pm DT de los receptores fue de 35 ± 11 años. El 58% fueron mujeres y el 42% fueron varones ($p=0,500$). El 68% habían presentado el SHUa con carácter esporádico y recibieron el 65% de los injertos. El 32% de los receptores tenían un SHUa familiar y recibieron el 35% de los injertos.

El 89% de los receptores fueron estudiados para la identificación de variantes patogénicas en los genes codificadores de las proteínas de la vía alternativa del

RESULTADOS

complemento. 53% de ellos se estudiaron con el panel reducido y el 47% restante con el panel amplio.

El 59% de los estudiados genéticamente portaban alguna variante en los genes codificadores del complemento. En el 41% de los receptores estudiados genéticamente no se identificó ninguna variante, pero todos ellos eran portadores de haplotipos de riesgo en CFH y/o en MCP. La frecuencia y tipología de las variantes y haplotipos de riesgo en los pacientes sin variantes identificadas se resumen en la tabla 22.

El 50% de los trasplantes se realizaron en los 10 receptores portadores de variantes. Cuatro trasplantes se realizaron en los tres receptores portadores de variantes en CFH aisladas; tres en dos portadores de variante en CFHR1; dos en el portador de variantes en CFD+C6+C7; uno en el portador de variantes en CFH y MCP; uno en el portador de variante en C3; uno en el portador de C3 y en MCP y otro en el portador de MCP aislada. 11 trasplantes (tres en dos receptores) se realizaron en pacientes en los que no se identificó ninguna variante, aunque todos ellos tenían haplotipos de riesgo en CFH aislados o simultáneamente, en heterocigosis o en homocigosis. Otros dos trasplantes se realizaron en sendos receptores no estudiados genéticamente. (tabla 22).

En tres trasplantes y en tres receptores diferentes se empleó eculizumab como tratamiento profiláctico de recidiva en adición al tratamiento inmunosupresor consistente en una combinación de anticalcineurínicos (ciclosporina o tacrolimus), micofenolato mofetil y prednisona. Dos de los pacientes tratados con eculizumab eran portadores de variantes (en CFH y CFHR1). La tercera paciente presentaba un SHUa familiar sin que se lograra identificar ninguna variante con el panel corto y había perdido dos injertos previamente por recidiva. El tratamiento con eculizumab consistió en la administración de 1200 mg el día 0 del trasplante, 900 mg el día 1 y posteriormente de 900 mg en intervalos semanales, durante 4 semanas para pasar a 1200 mg la 5ª semana, y a partir de ésta mantener esa dosis a intervalos bisemanales de forma indefinida.

Tabla 22: Características demográficas, tipo de trasplante (vivo/cadáver), tipología de las variantes genéticas y tratamiento con eculizumab de los 19 pacientes receptores de trasplante renal en la cohorte de pacientes diagnosticados de SHUa del Hospital Universitario A Coruña

Característica

Edad (años, media \pm DT)	34 \pm 11
Diagnosticados en edad pediátrica	2 (10)
Mujeres (n, %)	11 (58)
Donante cadáver (n, %)	23 (88)
Con estudios genéticos (n, %)	17 (89)
Tipo de variantes genéticas en los receptores	n
CFH	3
CFH+MCP	1
CFHR1	2
MCP+C3	1
MCP	1
C3	1
CFD+C6+C7	1
No identificadas	7
No estudiados	2
Profilaxis con eculizumab	3

7.10.2 Episodios de recidiva

Los episodios de recidiva fueron frecuentes, precoces y severos. En total ocho (42%) pacientes y 12 injertos (46%), experimentaron recidiva después del trasplante.

10 (91%) episodios de recidiva se presentaron en el post-trasplante inmediato y en todos los casos conllevaron la pérdida del injerto. Otra paciente presentó recidiva en forma de nefropatía crónica con desarrollo de anemia hemolítica y con pérdida del injerto a los 14 años del trasplante con una biopsia con cambios de microangiopatía crónica y trombosis arteriolar aguda. El resto de las pérdidas de injertos se debieron en cinco casos a nefropatía

crónica del injerto, incluyendo una glomerulopatía del trasplante, y en otro a fallecimiento del paciente con el trasplante funcionante. Excluyendo la del paciente fallecido, las pérdidas de los injertos se produjeron en 12 ocasiones en el primer trasplante, siete de ellas por recidiva, en tres ocasiones en el segundo trasplante todas por recidiva, y en otro paciente en el tercer trasplante también por recidiva.

Los episodios de recidiva se manifestaron en dos injertos de sendos pacientes portadores de variantes en CFH (en uno aislada y en el otro combinada con MCP); en un portador de variantes en CFHR1; en dos ocasiones en un portador de variantes en CFD, C6 y C7 y en otras seis ocasiones en tres receptores sin variantes identificadas con el panel corto y con haplotipos de riesgo en CFH en heterocigosis uno y en MCP en homocigosis y heterocigosis, respectivamente, los otros dos.

El único paciente trasplantado con variante aislada en MCP no sufrió recidiva y tampoco lo hizo el paciente trasplantado con una variante en MCP combinada con otra en C3. Tampoco experimentaron recidiva los tres receptores tratados profilácticamente con eculizumab a pesar de que dos de ellos era portadores de variantes en CFH y en CFHR1, y que dos habían recibido, y perdido por recidiva, uno y dos injertos previamente.

7.10.3 Supervivencia del paciente y del injerto.

De los 19 pacientes trasplantados uno falleció con el injerto funcionante y nueve permanecen vivos con el injerto funcionante al final del seguimiento (Figura 20). En consecuencia, la mortalidad de los pacientes fue del 5% y la supervivencia de los injertos a uno, tres, cinco años y diez años fue de 61,5%, (en riesgo=15), 57% (en riesgo=11), 52% (en riesgo=10) y 41% (en riesgo seis), respectivamente (Figura 21) y estuvo negativamente condicionada por la incidencia de recidiva, con una supervivencia al año del 33% (cinco pacientes en riesgo) frente a 81% al año en los que no experimentaron recidiva ($p<0,001$) (Fig. 22), y favorablemente influenciada por el tratamiento profiláctico con eculizumab con una supervivencia al año del 100%.

RESULTADOS

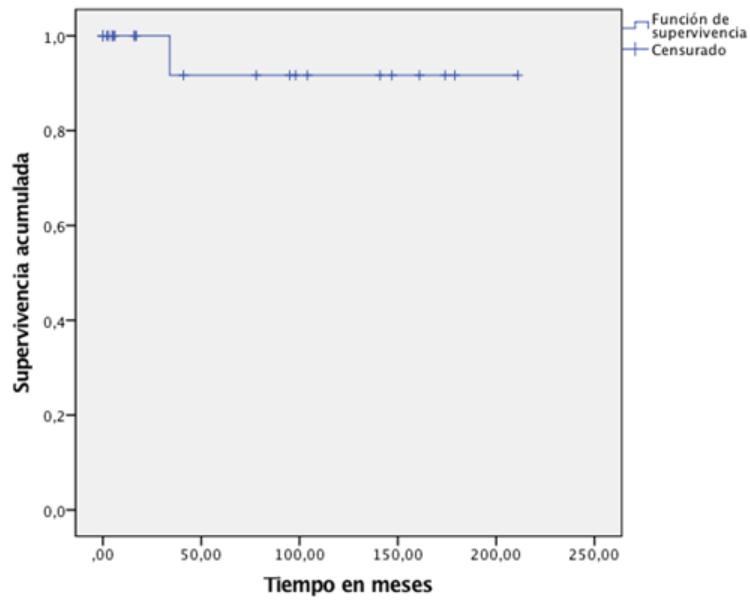


Figura 20: Supervivencia de los 19 pacientes diagnosticados de SHUa receptores de 26 trasplantes renales en el Hospital Universitario A Coruña

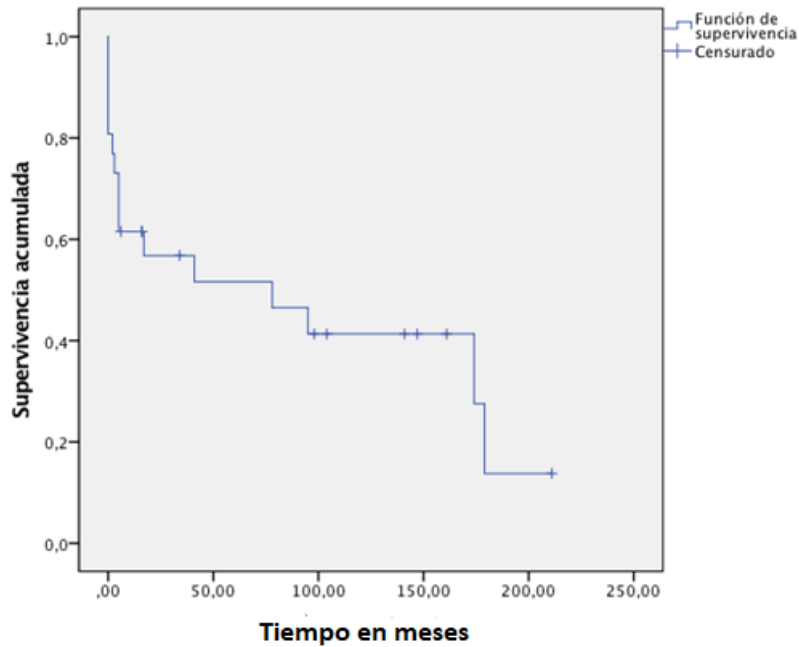


Figura 21: Supervivencia del injerto en 26 trasplantes renales realizados en 19 receptores diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

RESULTADOS

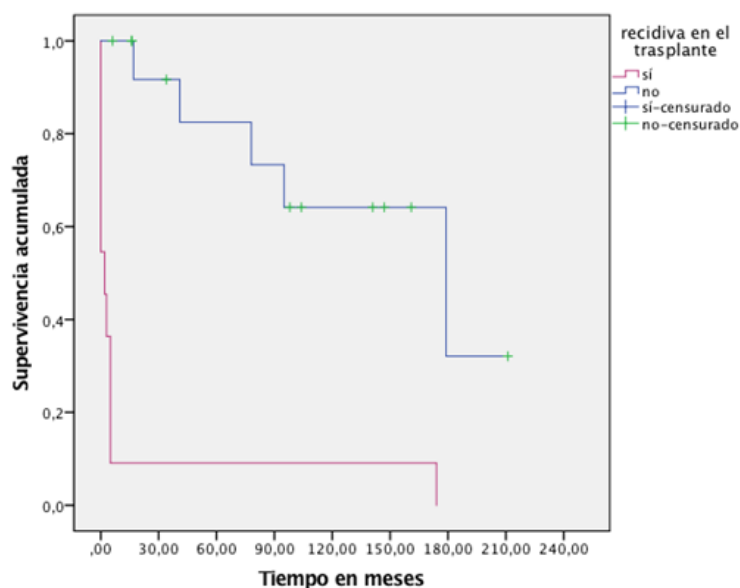


Figura 22: Supervivencia del injerto en pacientes diagnosticados de SHUa receptores de un trasplante renal con y sin recidiva de la enfermedad en el injerto

7.11 SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES EN LA COHORTE

La supervivencia de los pacientes con SHUa a uno, cinco, diez y quince años fue de 98% (46 pacientes en riesgo), 96% (37 pacientes en riesgo), 90% (28 pacientes en riesgo), y 86% (15 pacientes en riesgo), respectivamente (Fig. 23).

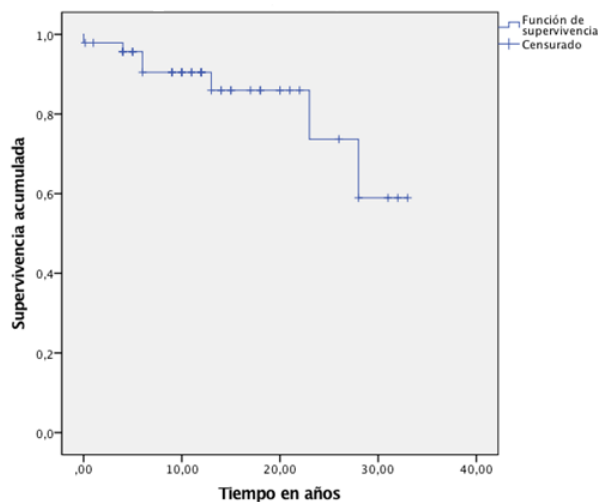


Figura 23: Supervivencia de los 48 pacientes diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

RESULTADOS

En total fallecieron siete (14%) pacientes. (Tabla 23) Todos ellos adultos en el momento del episodio inicial. Las causas, la situación clínica en el momento del éxitus y el tiempo transcurrido desde el episodio inicial se exponen en la tabla 22. Un paciente falleció en el episodio inicial por una sepsis mientras estaba en diálisis por fracaso renal agudo. Otros dos pacientes que habían recuperado la función renal íntegramente fallecieron a los 75 meses del episodio inicial a consecuencia de un carcinoma de próstata y por parada cardiorrespiratoria, respectivamente.

El resto de pacientes fallecidos habían entrado en insuficiencia renal terminal después del episodio inicial. Un paciente falleció con un injerto funcionante a los 34 meses del episodio inicial y a los 23 meses del trasplante por causa desconocida. Los otros tres pacientes fallecieron mientras estaban en diálisis permanente como tratamiento substitutivo: dos de ellos después de un trasplante fallido. El paciente no trasplantado falleció a los 52 meses del episodio inicial a causa de un mesotelioma y los otros dos fallecieron uno de muerte súbita a los 29 años del episodio inicial y a los 16 meses del trasplante y el otro a consecuencia de una necrosis mesentérica a los 13 años del episodio inicial y al año del trasplante.

Tabla 23: Causa del éxitus, tiempo desde el diagnóstico de la enfermedad y situación clínica en los pacientes diagnosticados de SHUa de la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Causa de éxitus	Tiempo desde el episodio inicial	Situación clínica
Sepsis	7 días	Fracaso renal agudo
Ca de próstata	75 meses	Recuperación íntegra de la función renal
Muerte súbita	75 meses	Recuperación íntegra de la función renal
Mesotelioma	52 meses	Diálisis permanente
Desconocida	34 meses (23 meses post trasplante)	Injerto funcionante
Muerte súbita	29 años (16 meses postrasplante)	Diálisis permanente post trasplante
Isquemia mesentérica	13 años (1 año postrasplante)	Diálisis permanente post trasplante

7.12 PREVALENCIA Y MODALIDAD DEL TRATAMIENTO

Al final del periodo de seguimiento 45 % de los pacientes de la cohorte inicial permanecen con función renal normal de sus riñones nativos; 19% son portadores de un injerto funcional y 23 % permanecen en diálisis (Fig. 24).

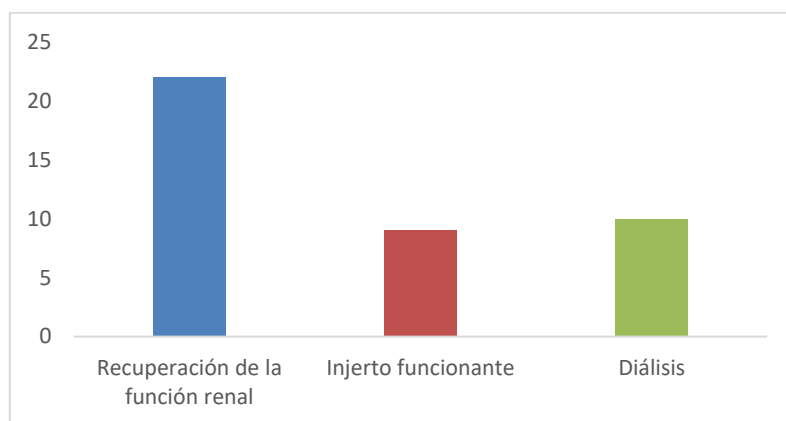


Figura 24: Situación con respecto a la función renal de los pacientes prevalentes de SHUa al final del periodo de seguimiento en la cohorte del Hospital Universitario A Coruña

Discusión

8 DISCUSIÓN

Se han estimado la Incidencia y prevalencia según la edad y el sexo, el substrato genético, las correlaciones genotipo-fenotipo, el impacto de las terapias convencionales y de los nuevos tratamientos, así como los resultados del trasplante renal, en una cohorte de 48 pacientes diagnosticados de SHUa en el Hospital Universitario de A Coruña con el registro CIE 9-MC. Es la mayor cohorte de un solo centro de nuestro país y una de las de mayor seguimiento publicadas hasta ahora a nivel internacional.

8.1 SEGUIMIENTO

En las enfermedades raras los seguimientos prolongados son una ventaja porque permiten analizar sus eventos evolutivos que son por definición infrecuentes. En el caso del SHUa, a diferencia de lo que ocurre con otras enfermedades más comunes, un largo período de seguimiento no constituye una limitación, porque los cambios más relevantes que se han producido en su conocimiento respecto a sus mecanismos patogénéticos básicos son recientes y no han modificado su abordaje terapéutico, basado en la plasmaterapia hasta la introducción del eculizumab como inhibidor de la vía final del complemento en 2011.

Precisamente, el elevado coste de eculizumab y la muy baja frecuencia del SHUa, hacen imprescindibles los estudios observacionales con amplio seguimiento porque no va a ser posible realizar un ensayo clínico aleatorizado para analizar la eficacia y seguridad del eculizumab respecto a la plasmaterapia. Para valorar la importancia de estudios como éste conviene tener en cuenta que la aprobación de eculizumab por la EMEA y FDA se produce en el año 2011 con la presentación de los resultados de un estudio realizado solo con 37 pacientes y con 26 semanas de seguimiento. Esta reciente introducción de eculizumab explica, como es natural, el menor seguimiento de los pacientes tratados con este fármaco en nuestra serie.

8.2 INCIDENCIA Y PREVALENCIA

El SHUa es una enfermedad rara. Nuestra estimación de prevalencia de un paciente por cada 16.994 habitantes (5,8/100.000), confirma esta aseveración (4). Hemos detectado una incidencia anual y una prevalencia al cierre del estudio superiores a las reportadas por otros autores. Sin embargo, nuestros resultados no son fáciles de comparar con los

obtenidos por otros grupos porque en ninguno de ellos la medida de la frecuencia de la enfermedad fue un objetivo primario y la metodología para obtener las estimaciones tampoco fue uniforme. En este estudio se estimaron las tasas de incidencia anuales y de prevalencia totales al final del estudio, en la edad pediátrica/adolescente y en adultos, en relación a sus poblaciones respectivas y a partir de un registro diagnóstico normalizado y obligatorio.

La incidencia media anual total en nuestra cohorte de 3,2 y 2,1 por millón año de población en riesgo para pacientes pediátricos y adultos, respectivamente, se aproxima a las de 1,2-2 por millón año reportadas en los estudios más precoces (5) (225) y a la de 1,9 por millón publicada por un grupo de cuatro hospitales universitarios de Tours en fechas recientes (8). Sin embargo, el primero de esos estudios restringe la casuística a la edad pediátrica, es multicéntrico, de reclutamiento voluntario, y se mezclan pacientes con síndrome hemolítico urémico típico (220 pacientes) y “no enteropático” (27 pacientes, de los cuales 9, el 38%, eran secundarios a infección por *Streptococcus pneumoniae*). Por otra parte, el grupo de Hospitales de Tours estima la incidencia sin distinguir entre pacientes pediátricos y adultos y el reclutamiento de los pacientes se obtuvo a partir de la búsqueda de palabras clave en los informes de alta (8).

Otros autores han publicado cifras de incidencia anual inferiores. Tal es el caso del grupo francés para el estudio del SHUa que reporta una incidencia anual de 0,23 pacientes por millón y año, sin distinguir entre pacientes pediátricos o adultos y utilizando como referencia la población total francesa (6), o el servicio de referencia británico para evaluar la indicación de eculizumab que estima una incidencia anual de 0,43 pacientes por millón con los datos del primer año de funcionamiento de ese servicio (7). En el primer caso, los pacientes se obtuvieron de una agrupación de centros que enviaban sus muestras para realizar un estudio genético centralizado. Las estimaciones británicas se obtuvieron a partir de los pacientes cuyos informes habían sido enviados a un centro de referencia para aprobar o no el tratamiento con eculizumab. En los dos estudios se estimó que la población referida, bien para estudios genéticos, bien para evaluar la indicación por eculizumab, representaban a la totalidad de pacientes con SHUa en ambos países.

La prevalencia estimada a partir de nuestros datos de 59, 63 y 25 pacientes por millón de población en riesgo total, en adultos y en pacientes pediátricos/adolescentes, respectivamente, es aún más difícil de comparar con la reportada por otros grupos porque los estudios que aportan esta medida de frecuencia son aún más escasos. En general, se suele referenciar el dato estimado de 3,3 pacientes de edad inferior a 18 años por millón de población basado en un estudio promovido por la Sociedad Europea de Nefrología

Pediátrica para elaborar un Registro, a pesar de estar hecho solamente con 167 pacientes reclutados voluntariamente entre 1974 y 2005 por los centros participantes procedentes de 12 países europeos (9).

Nuestros hallazgos también sugieren, como lo han hecho otros autores, que la frecuencia de SHUa se ha infraestimado. En este sentido es interesante referenciar un estudio realizado en Suecia, con datos extraídos de las muestras enviadas a un laboratorio de referencia para determinar ADAMTS13, en pacientes sospechosos de presentar PTT, y en el que se concluye que el 42% de los pacientes referidos cumplían criterios clínicos y analíticos de SHUa (10). Eso mismo se aboga en un meta-análisis reciente que recopila los casos de síndrome hemolítico urémico atípico publicados en 176 artículos entre 2005 y 2015 y que revela un incremento notable en los casos reportados en los últimos cinco años respecto a los precedentes (189 vs 79) (11).

También se ha discutido sobre si el SHUa es una enfermedad predominante en niños o adultos o sobre si su frecuencia es superior en las mujeres que en los varones. Algunos abogan por un predominio en los pacientes pediátricos excepto en los portadores de variantes en CFI y C3 (12), mientras que para otros autores se trata de una enfermedad predominante en adultos y de mayor frecuencia en las mujeres que en los varones con independencia de los casos atribuidos al embarazo (6).

Los resultados de este estudio enfatizan la importancia de estimar la frecuencia de la enfermedad utilizando parámetros precisos y homogéneos que faciliten una valoración adecuada y las comparaciones entre diferentes publicaciones. Nuestros resultados estiman que la incidencia anual de SHUa en los pacientes pediátricos es superior a la de los adultos cuando se comparan las tasas de incidencia referidas a la población infantil en el primer caso o a la población adulta en el segundo. Sin embargo cuando la referencia es a la población total, la incidencia anual de SHUa es superior en los pacientes adultos que en los pediátricos.

Estos resultados se explican por la gran diferencia que existe en nuestra área de referencia entre la población pediátrica y de adultos, que es ocho veces superior en el caso de los adultos. Esa misma explicación creemos que sirve para entender la mayor prevalencia de adultos observada en el grupo francés y para clarificar el concepto de enfermedad pediátrica o de adultos que es diferente según se contemple desde la incidencia o la prevalencia y según se tenga o no en cuenta la población en riesgo en cada caso.

Es posible conjeturar que más que tratar de dilucidar si el SHUa es una enfermedad predominantemente pediátrica o de adultos se trataría de ver qué tipo de alteraciones

genéticas o adquiridas en las proteínas de la vía alternativa del complemento se traducen en enfermedad con mayor precocidad. Parece que las variantes en MCP tienen una expresión más precoz y la presencia de autoanticuerpos anti factor H son más frecuentes en la población pediátrica (6, 12, 151, 190, 226). Nuestros resultados pueden avalar esta hipótesis puesto que las alteraciones en MCP aisladas fueron las más frecuentes en los pacientes pediátricos/adolescentes de nuestra cohorte (en tres de los seis pacientes estudiados).

8.3 CARACTERÍSTICAS BASALES

Todos los pacientes de la cohorte excepto uno, debutaron con un cuadro agudo de comienzo súbito. El único paciente que no debutó así fue diagnosticado al desarrollar anemia hemolítica microangiopática, con agudización de su nefropatía crónica de base al realizarle una fístula arteriovenosa para diálisis. La biopsia renal mostró un infiltrado intersticial agudo sobre lesiones crónicas de MAT confirmadas al revisar una biopsia previa (108). Algunos autores señalan que esta forma de presentación podría ocurrir hasta en un 20% de los casos (2, 19). De ser así, habría un argumento más para considerar que el SHUa puede estar infraestimado y podría conducir a un cambio en la política de indicación de biopsia en las nefropatías crónicas en evolución.

En la mayor parte de nuestros pacientes la forma más frecuente de presentación fue la esporádica. Este resultado está de acuerdo con la penetrancia de la enfermedad. En cualquier caso, el diagnóstico de los casos esporádicos debe mantenerse como provisional puesto que no se puede descartar la aparición de nuevos casos en el ámbito familiar. La forma de presentación familiar fue significativamente más frecuente en los pacientes pediátricos o adolescentes que en los adultos, quizás porque a esta edad los pacientes comparten factores ambientales, posibles desencadenantes, con el resto de pacientes con mutaciones, antes de que se produzca la posterior dispersión familiar. Por otra parte, es más fácil detectar antecedentes en progenitores jóvenes que en familiares de mayor edad o fallecidos cuando el diagnóstico de la enfermedad era menos común y los registros de enfermedad no estaban codificados o no eran obligatorios.

En contraposición a nuestros resultados, el grupo del Registro Internacional denominado “ PTT/SHUa recurrente y familiar” encuentra una prevalencia de casos familiares del 30% (12). Sin embargo, hay que señalar que en ese registro más de la mitad de los pacientes son menores de 18 años de edad y, además, no es descartable que sus resultados estén condicionados por un sesgo de selección tal y como el propio título del registro indica.

DISCUSIÓN

En una tercera parte de nuestros pacientes encontramos un posible proceso desencadenante, generalmente en forma de agente infeccioso, y como otros, hemos encontrado también como factores desencadenantes el embarazo en la fase post parto o la cirugía. Un hallazgo interesante fue el antecedente de exposición al frío intenso y probable hipotermia accidental como posible desencadenante del SHUa en dos pacientes. En uno de ellos el hecho de que la enfermedad y una recidiva se manifestaran después de sendos episodios de hipotermia accidental refuerza la hipótesis de que esa condición haya sido factor desencadenante y no una asociación casual. La hipotermia accidental no ha sido descrita previamente como factor desencadenante del SHUa. No obstante, se ha publicado un caso de SHUa en un paciente portador de VIH e infección por CMV que había presentado hipotermia accidental. Al ser resistente a la plasmaterapia y ceder con la administración de ganciclovir los autores consideran a la infección por CMV el factor causal o desencadenante del SHUa en ese paciente(227). Solo hemos encontrado una publicación que estudie la acción de la hipotermia clínica sobre la activación del complemento y en ella se concluye que si bien activa la vía clásica no lo hace sobre la vía alternativa (228). A la vista de nuestro hallazgo parece oportuno sugerir la realización de nuevos estudios para averiguar la posible acción de la hipotermia sobre la vía alternativa del complemento.

En nuestra serie, las manifestaciones extrarenales más frecuentes fueron las gastrointestinales, que afectaron a un tercio de los pacientes, y las neurológicas que afectaron a uno de cada cuatro. Las gastrointestinales fueron más frecuentes en los pacientes pediátricos y en las mujeres, mientras que las neurológicas fueron más frecuentes en los pacientes varones adultos. Ambas manifestaciones son fruto de la lesión endotelial de los distintos territorios vasculares y expresión de microinfartos intestinales o neurológicos. Las manifestaciones gastrointestinales también fueron significativamente más frecuentes en los pacientes pediátricos del grupo francés, así como las manifestaciones neurológicas, aunque en este último caso sin alcanzar significación estadística (6). Dado que nuestros resultados no alcanzan significación estadística no sabemos si pueden responder a una base fisiopatológica firme o si son un producto aleatorio presente en nuestra serie.

Se han encontrado diferencias en la severidad de la afectación hematológica y renal, así como en la prevalencia de hipertensión entre los pacientes pediátricos /adolescentes y los adultos. También se encontraron diferencias respecto a la severidad de la afectación renal entre las pacientes mujeres y los varones.

Todos los pacientes presentaron anemia con valores de hemoglobina inferiores a 11 mg/dL excepto dos pacientes pediátricos / adolescentes que debutaron con valores de 11 g/dL. El hecho de que los valores plasmáticos de LDH fueran significativamente superiores

DISCUSIÓN

en los pacientes pediátricos que en los adultos fue un resultado inesperado y carecemos de una explicación más allá del hecho de que estos valores son superiores en los niños que en los adultos en condiciones normales. En un estudio se ha encontrado una relación inversa significativa entre los niveles más elevados de LDH y el pronóstico de los pacientes con SHUa tratados con eculizumab (24).

Otro resultado interesante es el hallazgo de que hasta un 25% de los pacientes pediátricos/adolescentes y de los pacientes adultos debutaron con valores de plaquetas igual o inferiores a $36450 /\text{mm}^3$ o a $22250 /\text{mm}^3$, respectivamente. La plaquetopenia por debajo de $30000/\text{mm}^3$ se ha considerado un indicador de PTT (229). Sin embargo, valores como los aquí reportados ya han sido observados en otras series de pacientes con SHUa y obligan a reconsiderar este criterio en el diagnóstico diferencial de ambas entidades (25).

Los pacientes adultos presentaron valores de creatinina plasmática más elevados que los pacientes pediátricos y adolescentes, mayor requerimiento de diálisis (82% vs 50%) y una mayor prevalencia de hipertensión arterial en el episodio inicial (90% vs 37%). No obstante, salvo en el caso de la prevalencia en la hipertensión arterial las diferencias no fueron estadísticamente significativas, quizás debido al pequeño tamaño muestral de los pacientes pediátricos. Estos resultados sugieren que la afectación renal inicial es menos severa en los pacientes pediátricos, como ya había sido propuesto por el grupo francés para el estudio de SHUa, que encuentra una diferencia significativa en los requerimientos de diálisis entre los pacientes adultos (81%) y los pediátricos (59%) (6). No obstante, estos resultados deben ser observados con cautela porque la creatinina plasmática, debido a la diferencia de masa muscular, no es un buen estimador del GFR en estos pacientes y por otra parte, el menor requerimiento de diálisis podría ser debido a que los pacientes con necesidad de este tratamiento podrían haber sido derivados a otro centro que dispusiera de servicio de Nefrología infantil con facilidades para la diálisis.

Con respecto a la mayor severidad inicial en las mujeres, no encontramos una clara explicación, puesto que en la evolución posterior no hay diferencias en relación con el sexo. Una conjetura plausible, pudiera ser que las mujeres acudieran más tardíamente al hospital, por la mayor frecuencia de presentación de manifestaciones gastrointestinales frente a las neurológicas, que fueron las más frecuentes en los varones y que inducirían a éstos a acudir más tempranamente a los servicios sanitarios.

La hipertensión arterial se presentó con mayor frecuencia en los varones. Otra conjetura plausible para explicar este hecho sería que la edad de los varones era superior a la de las mujeres y es bien conocido que la prevalencia de HTA se incrementa con la edad.

8.4 VARIANTES GENÉTICAS

8.4.1 Pacientes afectados

La frecuencia de mutaciones en los genes del complemento en nuestra cohorte fue del 45% de los pacientes estudiados para CFH, CFI y MCP y de 73% de los casos en los que se estudiaron, además, C3, CFB y trombomodulina y otros genes candidatos del complemento. Todas las variantes se heredaron en heterocigosis y en todos los casos fueron missense excepto en una de ellas que fue de tipo non sense. La frecuencia total de mutaciones fue de 57%, superior a la reportada para la cohorte española (14) y similar al 60% la cohorte francesa (6). Las diferencias entre las distintas cohortes se pueden explicar por los diversos modos de selección de los pacientes. Por ejemplo, la española recoge pacientes con SHUa primario y secundario y cuando se corrige por ese factor la presencia de mutaciones se incrementa en los casos de SHUa primario hasta el 37,35% (14). Por su parte la cohorte francesa es más parecida a la nuestra porque tampoco recoge casos de SHUa secundarios.

8.4.2 Tipología de las variantes

En nuestros resultados llaman la atención la diferente distribución en la frecuencia de variantes y haplotipos de riesgo respecto a otras series europeas y a la propia cohorte española, así como la apreciable cantidad de variantes descritas por primera vez en nuestros pacientes. Es llamativa la alta prevalencia en nuestra cohorte de variantes en C3 que alcanza al 11% de los pacientes analizados y al 18% de los que fueron estudiados para detectar las variantes de este gen. Esta prevalencia de variantes en C3 difiere de la frecuencia observada en las cohortes española y europeas en las que la frecuencia está entre el 2,7% de la española (14), el 5% del registro internacional (12) y el 11% de la serie francesa (6). Nuestra estimación se aproxima a la reportada en Japón en que la frecuencia de variantes en C3 es del 31% (146). Este hallazgo sugiere que la distribución de variantes puede diferir según las poblaciones estudiadas, y que hay que analizar todos los genes involucrados en la vía alternativa del complemento, y no solo de los codificadores de sus proteínas reguladoras, incluso en ausencia de hipocomplementemia C3 (12, 230).

8.4.3 Variantes descritas por primera vez

Otro hecho distintivo en nuestra cohorte fue el hallazgo de una alta prevalencia de variantes en genes CFHR1-5, incluyendo un gen híbrido CFHR3-CFHR4 que en conjunto alcanzaron una frecuencia de 16% de todos los casos estudiados. También son relevantes las dos variantes combinadas en CFHR1 asociadas a un mismo polimorfismo en CFH que

portaban dos pacientes. Estas variantes han sido descritas por primera vez en estos pacientes y en otros siete más, uno de los cuales también procedía de Galicia, lo que refuerza la hipótesis de las posibles diferencias en la distribución de variantes según las poblaciones estudiadas (149). Estos casos ilustran la necesidad de explorar todas las posibilidades de variantes genéticas en todos los genes involucrados en la codificación de las proteínas del complemento y de la importancia de estudios funcionales. Hasta que se comprobó que en estos casos los cambios en CFHR1 producían una proteína FHR1 competidora de FH, se consideraba como variante causal al polimorfismo en CFH que va asociado haplotípicamente a las variantes en CFHR1(149).

También hemos encontrado deleciones CFHR1-CFHR3 y un gen híbrido CFHR3-CFHR4. No es sorprendente este hallazgo si se tiene en cuenta que los genes CFHR1-CFHR5 están muy próximos al gen de CFH y en una región con alta variabilidad genética y grandes duplicaciones genómicas. Estas duplicaciones hacen que esta región sea susceptible a reordenamientos genéticos como conversión de genes o recombinaciones no homologas (92).

El hallazgo de variantes descritas en CFD y en C6 y C7 en el mismo paciente plantea interrogantes de interés. Estas variantes no han sido descritas previamente en pacientes con SHUa y no se dispone de estudios funcionales en la paciente portadora. Por eso, no es fácil hacer conjeturas en este caso porque, si bien por una parte la ganancia de función en factor D podría explicar una posible activación de la vía alternativa del complemento, las variantes en C6 y C7 similares a estas, descritas en familias españolas y marroquíes, se han asociado a infecciones por gérmenes encapsulados por deficiencia en la formación del complejo de ataque de membrana (223, 231). También han sido asociadas a lupus eritematoso (224). En cualquier caso, el hallazgo de estas variantes ilustra la complejidad de los mecanismos involucrados en el SHUa, así como de la necesidad de realizar siempre que sea posible estudios funcionales que esclarezcan el papel de las variantes no descritas previamente.

8.4.4 Haplotipos de riesgo en CFH y MCP

En el 43% de los pacientes estudiados no se identificaron variante en los genes codificadores de las proteínas de la vía alternativa del complemento. Una posible explicación para este resultado es que no en todos los pacientes se estudiaron todos los genes candidatos de la vía alternativa del complemento y que, ni siquiera con el panel más amplio, se analizaron variantes en vitronectina o en plasminógeno que podrían ser relevantes en la patogenia del SHUa (107). La presencia de haplotipos de riesgo en CFH y/o

en MCP podría aportar una hipótesis alternativa para explicar la manifestación del SHUa en estos pacientes sin variantes genéticas en las proteínas del complemento.

La presencia de estos haplotipos de riesgo explica la mayor penetrancia de la enfermedad en los portadores de variantes(94, 95, 97) . 87% de nuestros pacientes estudiados fueron portadores de haplotipos de riesgo en CFH y/o en MCP (62% en CFH y 54% en MCP). Estas frecuencias fueron similares a las reportadas en la cohorte española (50,4% para el haplotipo de riesgo en CFH y de 62,4% para los portadores en MCP) (14).

Además, se ha conjeturado con el hecho de que la presencia de estos haplotipos, especialmente cuando se portan en homocigosis, podrían inducir la expresión de la enfermedad en condiciones de intensa activación del complemento. En este sentido tiene interés el hallazgo en nuestra cohorte de una frecuencia de estos haplotipos de riesgo en homocigosis con frecuencias similares a las de la cohorte francesa. Hemos encontrado una frecuencia de haplotipos de riesgo en homocigosis en CFH del 16%, en MCP del 24,3% y en ambos del 2%. En la serie francesa la frecuencias de haplotipo de riesgo en CFH en homocigosis fue de 33%, la de MCP en homocigosis de 23% y de 12% para ambos simultáneamente (6). De mayor interés es el hecho de que en los 16 pacientes de nuestra cohorte estudiados en los que no se encontró ninguna variante en los genes codificadores del complemento, la mitad eran portadores de uno u otro de estos haplotipos en homocigosis.

No hemos encontrado anticuerpos anti factor H en ninguno de nuestros pacientes , incluso teniendo en cuenta que en seis encontramos delección CFHR1-CFHR3 ,en un caso en homocigosis que es la situación a la que con frecuencia se asocia la presencia de estos anticuerpos (122). Una explicación para este hecho probablemente resida en el escaso número de pacientes pediátricos incluidos y estudiados en nuestra serie, ya que es precisamente en estos pacientes donde la incidencia de estos anticuerpos es mayor como se ha demostrado en España cuando se revisaron las muestras de 400 pacientes con SHUa y se encontraron 14 pacientes portadores de estos anticuerpos, de los cuales solamente uno era adulto (151).

8.5 ESTUDIOS FUNCIONALES

8.5.1 Valores plasmáticos de C3 y C4

46% de los pacientes con estudios genéticos, en los que se dispuso de valores iniciales de C3, presentaron valores plasmáticos por debajo de los límites normales de este factor indicando activación del complemento. Cinco de esos pacientes cursaron con niveles

normales de C4 lo que indica activación de la vía alternativa. En otros dos pacientes la hipocomplementemia C3 se acompañó de un descenso de los valores plasmáticos de C4 por debajo del 50% del límite inferior de la normalidad. Otros autores reportan también casos con hipocomplementemia C4 (12). Este fenómeno podría explicarse si el SHUa se desencadena por un agente infeccioso, como virus encapsulados cuyos componentes puedan activar simultáneamente las vías clásica y alternativa.

El hecho de que más de la mitad de los pacientes cursaran con valores normales de C3 y que solo uno de los casos con variantes genéticas en C3 presentara descenso en los valores plasmáticos de la proteína refuerza la sugerencia de que en los pacientes con SHUa sin hipocomplementemia C3 deben ser estudiados en busca de variantes en los genes codificadores y de todas las proteínas de la vía alternativa, y no solo de las reguladoras ya que estos valores pueden ser normales incluso en portadores de variantes patogénicas en C3, como ya habían referido otros autores (12).

8.5.2 Valores plasmáticos de FH y FI

En cuatro pacientes (12,5% de los estudiados) se encontraron valores plasmáticos de factor H inferiores a los establecidos como normales por el laboratorio de referencia. En ningún caso fueron iguales o inferiores al 10% de esos valores en correspondencia a que dos de los pacientes eran portadores de variantes en CFH en heterocigosis y los otros dos portaban haplotipos de riesgo en CFH también en heterocigosis. Dos pacientes, uno de ellos portador de una variante de significado incierto en CFI, presentaron valores de la proteína inferiores, pero superiores al 10%, de los considerados en el rango de normalidad como corresponde a la herencia de esa variante en heterocigosis.

8.5.3 Expresión de MCP en linfocitos de sangre periférica

Cuatro pacientes presentaban descenso en los valores de expresión de MCP, pero superiores al 50% de los establecidos como normales por el laboratorio de referencia, también en correspondencia con el hecho de que tres de ellos fueron portadores de variantes en MCP en heterocigosis y el otro, que era portador de una variante en CFH, también lo era de un haplotipo de riesgo en MCP en homocigosis.

La interpretación de los valores plasmáticos o en la expresión de proteínas reguladoras no es fácil. Si se utilizan en cribado, como preconizan algunos, pueden indicar que gen se debe de buscar en los estudios genéticos si los valores de la proteína son bajos. Sin embargo, estos valores pueden ser normales hasta en un 60% de los casos con variantes patogénicas porque la proteína afectada se secreta normalmente y es su función la que es

aberrante (230). Cuando las proteínas se analizan una vez realizados los estudios genéticos o, simultáneamente con ellos, los valores bajos son fáciles de interpretar desde el punto de vista funcional en las variantes nonsense y representan mutaciones de tipo I. Sin embargo, en las variantes missense, que fueron las predominantes en nuestra cohorte, los valores bajos de proteína son más difíciles de interpretar porque la afectación estructural puede afectar a su síntesis, a su secreción o a su función efectora (230).

Por otra parte, a la hora de valorar los resultados y compararlos con los obtenidos por otros autores hay que tener en cuenta que la metodología no está normalizada y que las variaciones entre laboratorios son grandes (230). Además, se sabe que los valores de algunas de ellas, como FH, pueden variar en función de la edad, del consumo de tabaco (168) y de la presencia de haplotipo de riesgo en CFH y CFHRs (14, 169). También es un hecho referido que MCP puede modificar su expresión de forma coyuntural (103, 104).

8.6 NORMALIZACIÓN HEMATOLÓGICA

Prácticamente todos los pacientes, excepto tres que acabaron perdiendo la función renal totalmente, recuperaron valores normales de plaquetas y LDH en torno al mes del inicio de la enfermedad. Estos resultados son similares a los aportados por otros autores que reportan una normalización hematológica en el 75% de los pacientes tratados exclusivamente con plasmaterapia al día 21 del inicio de la enfermedad (232) o al 53% que la recuperan a la semana en los pacientes tratados con eculizumab (176).

La recuperación fue algo más precoz en los pacientes pediátricos/adolescentes y más lenta en los portadores de variantes en CFH lo que posiblemente se explique por el diferente grado de severidad de la enfermedad en uno y otro grupo de pacientes. La recuperación hematológica no solo fue más frecuente sino que también fue algo más precoz que la recuperación de la función renal como ya habían observado otros autores tanto en pacientes tratados con plasmaterapia como con eculizumab (232) (233). Este hecho puede tener una explicación basada en que las lesiones endoteliales renales pueden provocar isquemia renal sobreañadida, en algunos casos irreversible, motivo por el cual, la recuperación de la función renal, de producirse, lo haría una vez cesada la actividad de la microangiopatía.

La normalización hematológica ha sido habitualmente considerada como un marcador de cese de la actividad de la enfermedad y por ello usada como criterio para suspender el tratamiento con plasmaterapia. Sin embargo, el hecho de que se hayan descrito pacientes que han evolucionado de forma crónica con proteinuria e hipertensión(2, 19, 20)

o de que algunos pacientes en diálisis sin actividad hemolítica tratados con eculizumab hayan podido abandonarla (234, 235), cuestiona ese criterio. Por eso, habría que reconsiderar si los pobres resultados obtenidos con la plasmaterapia habrían sido debidos a la suspensión de este tratamiento basándose exclusivamente en la normalización hematológica, sin prestar atención a la evolución de la función renal. La suspensión precoz de la plasmaterapia también podría explicar algunos episodios considerados como recidivas muy precoces, que podrían no ser más que la emergencia de la actividad hemolítica en casos de suspensión precoz de ese tratamiento.

8.7 AFECTACIÓN RENAL

La afectación renal fue muy severa en los pacientes de nuestra cohorte y hasta un 77% de ellos precisaron de diálisis. El riesgo relativo para esta eventualidad fue significativamente superior para los pacientes portadores en variantes en CFH. Además, el 40% de los pacientes que precisaron diálisis como tratamiento inicial permanecieron en ella definitivamente siendo los adultos y los portadores de variantes en CFH los pacientes con mayor riesgo para permanecer definitivamente en esa situación.

El 48% de los pacientes permanecieron en diálisis definitivamente y la supervivencia renal a uno, cinco y 10 años fue del 56%, 53% y 50%, respectivamente. Los resultados de supervivencia renal confirman que la mayor parte de los pacientes en tratamiento substitutivo proceden de los que presentaron inicialmente fracaso renal agudo o recuperaron la función renal parcialmente. Solo excepcionalmente dos pacientes que recuperaron inicialmente la función renal íntegramente entraron en diálisis por recidiva. Tanto la estimación de los riesgos relativos como los análisis de supervivencia mostraron que el ser portador de variantes en CFH, en CFHRs y la necesidad de diálisis inicial fueron los factores determinantes para la pérdida definitiva de la función renal.

8.7.1 TRATAMIENTO CON ECULIZUMAB

El tratamiento con eculizumab mejoró claramente el pronóstico renal en los pacientes de la cohorte tratados con este fármaco. Todos los pacientes tratados habían recibido diálisis Sin embargo, todos los que precisaron diálisis recuperaron íntegramente la función renal, excepto el paciente con MAT crónica comentado previamente que entró en diálisis definitivamente dos años después. Estos resultados confirman los obtenidos por nuestro grupo en una publicación anterior que sugerían que el tratamiento con eculizumab modificaba el pronóstico de los pacientes con SHUa(182), aun teniendo en cuenta que en el momento en que se realiza el estudio, en los inicios del uso del fármaco, no se pudo disponer

DISCUSIÓN

del eculizumab en la fase precoz del diagnóstico, sino que se utilizó en todos los casos como fármaco de segunda línea, en pacientes con mala respuesta a la plasmaterapia.

Nuestros resultados son consistentes con los aportados por el único estudio prospectivo publicado hasta la fecha que engloba a 37 pacientes con SHUa tratados con eculizumab y con un seguimiento de 64 semanas (176). En ese estudio los pacientes fueron divididos en dos grupos el primero de los cuales, que incluye a 17 pacientes con una MAT en evolución, es el que más se parece a nuestra serie, aunque difiere en que sus pacientes son más jóvenes que los nuestros, incluye casos con afectación en riñones nativos y trasplantados y solo cinco de ellos necesitaban diálisis en el momento del tratamiento con eculizumab. En ese estudio se comprobó la eficacia del tratamiento con eculizumab en la mejoría de la función renal ya que cuatro de los cinco pacientes que precisaban diálisis al inicio del tratamiento pudieron prescindir de ella al final del seguimiento y, aunque no se menciona cuantos recuperaron la función renal completa, se refiere que hubo un descenso del 25% o más en los valores de creatinina plasmática en todos los pacientes excepto en el que precisó de diálisis permanente. Además, en ese estudio también se comprobó un descenso en los valores medios de proteinuria al final del seguimiento.

Nuestros resultados difieren algo de los aportados por la, hasta ahora, mayor serie publicada sobre el uso de eculizumab en pacientes con SHUa con afectación renal en riñones nativos (236). En ese estudio se identificaron un total de 19 pacientes entre todos los servicios de Nefrología de Francia entre los años 2011 a 2012. La serie se parece a la nuestra en que eculizumab fue administrado tras al menos cinco sesiones de plasmaterapia, excepto en tres casos, y que las variables de pronóstico renal son similares a las nuestras, aunque difiere en la edad de los pacientes incluidos, que es menor que la de nuestros pacientes, y en el grado de afectación renal, ya que solo nueve necesitaban diálisis al inicio del tratamiento con eculizumab. A pesar de que los pacientes de esta serie son más jóvenes y presentan un daño renal menos severo que los nuestros, sus resultados del tratamiento con eculizumab son inferiores a los obtenidos por nosotros en pacientes adultos, puesto que solo obtienen la recuperación íntegra de la función renal en 10 pacientes, y reportan evolución a enfermedad renal crónica en seis y permanencia en diálisis al final del seguimiento en tres del total de los 19 pacientes estudiados. Estas diferencias quizás se puedan explicar tal y como reconocen los autores, porque se suspendió el tratamiento con eculizumab en cinco pacientes, o se produjo un retraso en su administración por diagnóstico tardío o se interrumpió precozmente al interpretar que la recuperación de los niveles de plaquetas significaba la inactivación de la MAT, todo ello expresión, probablemente del

carácter heterogéneo de su muestra y de las diferencias en el manejo clínico de los pacientes.

8.7.2 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Un hecho reseñable es que hasta un 56 % de los pacientes con recuperación íntegra de la función renal permanecen hipertensos, y un 80 % de la población total. Curiosamente, la evolución de la hipertensión arterial en pacientes con SHUa tratados con eculizumab no ha sido estudiada en ninguno de los artículos publicados hasta la fecha. El hecho de que la gran mayoría de nuestros pacientes tratados con eculizumab permanezcan hipertensos a pesar de no haber suspendido el tratamiento, sin diferencias significativas en este aspecto con los pacientes tratados con plasmaterapia exclusivamente, sugiere que algunos de nuestros pacientes podrían presentar daño renal previo, al ser portadores de un SHUa no diagnosticado anteriormente, ya que esta es una entidad crónica, que cursa con brotes, y que hasta en una cuarta parte de los casos puede evolucionar de forma insidiosa con proteinuria e hipertensión arterial, como de hecho parece haber ocurrido en uno de nuestros pacientes.

La elevada prevalencia de hipertensión arterial en esta población, enfatiza la importancia de mantener controles de la tensión arterial aunque la recuperación de la función renal haya sido completa, y por otro lado, introduce la cuestión sobre el fármaco más idóneo para su control en estos pacientes con riesgos particulares, a la luz de un reciente trabajo, que muestra peor evolución de la función renal en pacientes diabéticos con polimorfismo H3 en homocigosis, cuando son tratados con IECA, por la activación del complemento, consecuencia del incremento de renina que ocasionan (237).

8.8 RECIDIVA

21% de los pacientes experimentaron recidiva de la enfermedad en los riñones nativos. El riesgo de recidiva fue tres y cuatro veces superior en los pacientes diagnosticados en la edad pediátrica/adolescente y en los portadores de variantes genéticas en MCP, respectivamente. Ninguno de los pacientes tratados con eculizumab sufrió recidiva. Llamativamente los episodios de recidiva en los pacientes que recuperaron íntegramente la función renal después del episodio inicial del SHUa se manifestaron muy tardíamente con una mediana de tiempo de unos siete años transcurridos desde el episodio inicial. La aparición de recidivas tan tardías como la observadas en nuestra serie plantean la conveniencia o no de la interrupción del tratamiento con eculizumab a largo plazo.

La asociación de recidiva con la edad pediátrica y con el ser portador de variantes en MCP observada en nuestra cohorte confirma los resultados obtenidos por la cohorte francesa y el registro internacional (6) (12). La ausencia de recidiva en los pacientes tratados con eculizumab también confirman los hallazgos obtenidos por otros. La frecuencia de recidiva es claramente inferior a la reportada en la cohorte francesa (43% en pacientes pediátricos y 35% de adultos) y a la del registro internacional. Además, el grupo francés concluye que el 82% de las recidivas ocurren durante el primer año y, que a partir de esa fecha, el riesgo de recidiva disminuye hasta un 25% excepto en los pacientes pediátricos y portadores de MCP. Por eso, enfatizan la necesidad de una monitorización muy cuidadosa de los pacientes durante el primer año. La cifra de recidiva a partir del primer año se aproxima más a la obtenida en nuestra serie. Una explicación para entender la muy alta frecuencia de recidivas precoces reportada por el grupo francés reside en el hecho de que las estimaciones se hicieron con datos de pacientes que sobrevivieron al episodio de SHUa sin alcanzar la situación de insuficiencia renal terminal.

En nuestra serie también encontramos pacientes con recidiva en los tres primeros meses del episodio inicial en situación de insuficiencia renal crónica, no terminal. No se puede descartar que esos pacientes en situación de insuficiencia renal crónica en realidad no sufrieran una recidiva, sino que presentaran una exacerbación del proceso inicial como consecuencia de no haber sido tratados con suficiente intensidad con plasmaterapia o que ésta fuera interrumpida prematuramente.

8.9 TRASPLANTE RENAL

En total se trasplantaron 26 injertos a 19 pacientes, el 76% de los que entraron en tratamiento substitutivo, lo que indica un importante esfuerzo asistencial. No obstante, y teniendo en cuenta que un paciente falleció con el injerto funcionante, el trasplante renal solamente tuvo éxito en nueve pacientes, uno de los cuales era portador de una variante en MCP y los otros tres se trataron profilácticamente con eculizumab. Es decir, solamente tuvieron éxito el 33% de los pacientes trasplantados sin variantes aisladas en MCP y sin profilaxis con eculizumab frente al 100% de los tratados con este fármaco a pesar de ser receptores de alto riesgo.

El motivo principal de las pérdidas de los injertos fueron las recidivas y prácticamente todas ellas en la fase inmediata del trasplante. Sin embargo, el hallazgo de una recidiva muy tardía a los 14 años del trasplante con el diagnóstico confirmado en la biopsia y el hecho de que el resto de pérdidas fueran etiquetadas, sin biopsiar, como nefropatía crónica del injerto o como glomerulopatía crónica del trasplante en un caso

biopsiado, plantean la duda de si también estos pacientes pudieran haber experimentado un proceso de recidiva con una larga evolución. Nuestros hallazgos también confirman que la realización de estudios genéticos amplios que incluyan todos los genes candidatos es imprescindible a la hora de realizar el trasplante renal en los pacientes con SHUa.

Los resultados de esta cohorte confirman los obtenidos por otros en la era pre-eculizumab o con el uso de este fármaco. Efectivamente los resultados del trasplante renal aislado en la era pre-eculizumab han sido muy insatisfactorias y comprometidos por la muy alta tasa de recidivas, excepto en los pacientes con variantes aisladas en MCP, lo que llevó a algunos grupos a la exclusión de los pacientes con SHUa de los programas de trasplante aislado o en su caso a su remisión al trasplante combinado de hígado y riñón (9, 12, 184).

Aunque solamente tres de los pacientes trasplantados de la cohorte fueron tratados profilácticamente con eculizumab, el hecho de que todos ellos permanecieran sin recidivas y con el injerto funcionando, confirma los excelentes resultados obtenidos en los estudios realizados con este fármaco para la prevención o tratamiento de las recidivas en el trasplante renal aislado. Así por ejemplo, se demostró su efectividad en un primer estudio en el cual de 11 pacientes trasplantados renales tratados profilácticamente con eculizumab solamente uno perdió el injerto por trombosis los demás funcionaron satisfactoriamente sin presentar recidivas en 14 meses de seguimiento (187).

La eficacia de la profilaxis con eculizumab en el trasplante también se confirmó en un estudio recopilatorio con 188 pacientes tratados con eculizumab que demostró, además, que los resultados empeoraron cuando el fármaco se utilizó no como profilaxis, sino cuando el diagnóstico se hizo una vez trasplantado el paciente, enfatizando la utilidad de su uso precoz en cualquier caso (189). Una confirmación más reciente procede de un estudio de 126 trasplantes realizados en 116 receptores en Francia, de los cuales 59 trasplantes se realizaron con tratamiento con eculizumab. En total se registraron 43 recidivas (34%), de las cuales, 39 se produjeron en pacientes no tratados con eculizumab y solamente cuatro en los que lo recibieron profilácticamente. Por otra parte, reportan que gracias al tratamiento con eculizumab el número de pacientes con SHUa trasplantados renales en Francia se ha incrementado de 46% a 72% en solo cuatro años (2012-2016). Los autores concluyen que eculizumab ha revolucionado el tratamiento con trasplante renal y modificado la epidemiología final del SHUa en su país (190).

8.10 SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES

En total fallecieron siete (14%) pacientes. Todos ellos diagnosticados de SHUa en la edad adulta y ninguno de los tratados con eculizumab. La supervivencia de los pacientes a uno, cinco, diez y quince años fue de 98%, 96%, 90 y 86%, respectivamente. Este hecho se debe a que solamente un paciente falleció durante el episodio inicial. Los otros pacientes fallecieron años después de ese episodio y por causas independientes del SHUa.

Es frecuente agregar la mortalidad a la pérdida completa de la función renal como un “endpoint” pronóstico compuesto, lo que no clarifica suficientemente la magnitud de cada evento por separado. En una de las revisiones seminales efectuada en 1991 sobre la eficacia de la plasmaterapia en lo que entonces se denominaba complejo HUS/P TT se reportó una mortalidad del 16% (173) y en revisiones posteriores se publicaron frecuencias de mortalidad similares como del 19% en portadores de variantes en CFH (12).

Una disminución notable en la mortalidad hasta un 5% al año en pacientes tratados con plasmaterapia ha sido reportada por el grupo francés (6). Los autores de este estudio atribuyen la diferencia de mortalidad en su cohorte respecto al 19% de mortalidad en pacientes portadores de variantes en CFH observada en los pacientes incluidos en el Registro Internacional al hecho de que en este registro haya una mayor prevalencia de casos severos de SHUa. Nuestros resultados globales son muy similares a los obtenidos por el grupo francés lo cual no es de extrañar dada la similitud de nuestras cohortes en cuanto a severidad de la enfermedad con casi idénticos requerimientos de diálisis en pacientes pediátricos y adultos.

Sin embargo, en contraste con nuestros hallazgos, en la cohorte francesa se aporta una mortalidad al año superior en los pacientes pediátricos /adolescentes (6,7%) que en los adultos (0,8%) a pesar de que la gravedad inicial del episodio, medida por los requerimientos de diálisis, fue superior en estos (81%) que en aquellos (59% (6). Para explicar esta diferencia sería preciso conocer si puede o no haber diferencias en la calidad y en el acceso a servicios especializados entre los pacientes pediátricos y adultos en las diferentes cohortes. Una explicación alternativa puede estar en el hecho de que las complicaciones de la plasmaféresis y ,por tanto ,su morbimortalidad pueden ser superiores en los pacientes pediátricos que en los adultos (237) .

El empleo precoz, en primera línea, de eculizumab puede conducir a un descenso mayor de la mortalidad al disminuir la incidencia de insuficiencia renal terminal y las complicaciones asociadas a esta condición, así como las complicaciones derivadas de la

DISCUSIÓN

plasmaterapia intensiva. Desde luego esto es lo que sugieren los resultados de algunos registros como uno japonés, que en 118 pacientes con SHUa, encuentran una mortalidad global de 5,4 % y ningún fallecimiento en los 21 pacientes tratados con eculizumab sin interrupción (25) o los reportados en un estudio compilatorio de otros publicados en 2019 que englobaba a 93 pacientes tratados con eculizumab en el cual solamente fallecieron tres pacientes, ninguno de ellos atribuible al fármaco (181)

Limitaciones

9 LIMITACIONES

El estudio observacional de cohortes es el más pertinente para estudiar las enfermedades raras, pero tiene sus limitaciones en el control de sesgos y problemas de confusión para establecer relaciones de causa-efecto.

Por su parte, las enfermedades raras con eventos infrecuentes limitan la potencia de los estudios y el control del error aleatorio. El pequeño tamaño muestral también limita la capacidad para hacer análisis de estratificación o modelos multivariantes que ajusten las posibles variables de confusión.

9.1 SESGOS DE SELECCIÓN

Los pacientes fueron seleccionados a partir de los diagnósticos codificados mediante el sistema CIE9-MC, que tiene vigencia en el Hospital Universitario A Coruña desde 1.995 a 2.015. Sin embargo, en el estudio se incluyeron pacientes diagnosticados desde 1.984, por tanto, podría haber ocurrido que pacientes con SHUa diagnosticados entre esas fechas y fallecidos o perdidos para el seguimiento, hubieran sido excluidos en la muestra final. Se cotejaron los datos con el registro de la Unidad de Plasmaféresis, y no se detectaron más casos.

En cuanto a la posibilidad de la existencia de un sesgo en la selección final de los pacientes en el sentido de que algunos de ellos pudieran ser en realidad STEC-SHU o PTT, a pesar del cumplimiento de los criterios de inclusión/exclusión definidos en el diseño del estudio, nuestros resultados nos permiten minimizar con una razonable convicción ese posible sesgo: un total de 40 pacientes o bien no presentaron diarrea antes o durante el episodio inicial, tenían variantes en los genes codificadores de las proteínas reguladoras de la vía alternativa del complemento, presentaron episodios de recidiva, o acabaron definitivamente en diálisis a consecuencia del episodio inicial; el resto de los pacientes (8) que no cumplían esas características, presentaban un coprocultivo negativo para *E. Coli* 0157.

9.2 SESGOS DE INFORMACIÓN

Se hizo una revisión exhaustiva de la historia clínica en todos los pacientes y del estudio genético en los pacientes en los que se había realizado.

Los datos genéticos analizados corresponden al momento de la realización del estudio. Evolutivamente los estudios genéticos van incorporando nuevos hallazgos, lo que condiciona que los resultados obtenidos pudiesen modificarse en estudios posteriores que incorporen los avances en el conocimiento.

9.3 ERROR ALEATORIO Y CONFUSIÓN

Para controlar el error aleatorio se ha considerado como estadísticamente significativo $p < 0,05$.

La magnitud de los efectos se midió con el estimado puntual y su intervalo de confianza del 95%, que incrementa la precisión de la medida y a la vez estima la significación estadística del resultado.

En los casos en que la edad o la presencia de determinadas variantes genéticas podían confundir el resultado de algún evento, se intentó ajustar estas variables mediante el modelado con el método de riesgos proporcionales de Cox.

En los casos en que este modelado no fue posible, consideramos más significativo desde el punto de vista causal, el factor con mayor magnitud de efecto.

Publicaciones derivadas de la tesis

10 PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

American Journal of
Nephrology

Original Report: Patient-Oriented, Translational Research

Am J Nephrol 2018;48:225–233
DOI: 10.1159/000492865

Received: May 16, 2018
Accepted: August 7, 2018
Published online: September 11, 2018

Ecuzumab Modifies Outcomes in Adults with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome with Acute Kidney Injury

Mercedes Cao^a Bruna N. Leite^a Tamara Ferreiro^a María Calvo^a
Constantino Fernández^a Ángel Alonso^a Alejandro Rodríguez^a
Pilar Salvador^b Rocío Seijo^c Salvador Pita^c Emilia Arjona^d
Santiago Rodríguez de Córdoba^d Francisco Valdés Cañedo^a

^aDepartment of Nephrology, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña, Spain; ^bPharmacy Service, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña, Spain; ^cEpidemiology Service, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña, Spain; ^dDepartment of Cellular and Molecular Medicine, Centro de Investigaciones Biológicas and Ciber de Enfermedades Raras, Madrid, Spain

Keywords

Ecuzumab · Atypical hemolytic uremic syndrome · Acute kidney injury · Complement pathway · Plasma therapy

Abstract

Background: Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a rare disease associated with congenital or acquired genetic abnormalities that result in uncontrolled complement activation, leading to thrombotic microangiopathy and kidney failure. Until recently, the only treatment was plasma exchange or plasma infusion (PE/PI), but 60% of patients died or had permanent kidney damage despite treatment. Ecuzumab, a complement inhibitor, has shown promising results in aHUS. However, data are mainly extracted from case reports or studies of heterogeneous cohorts, and no direct comparison with PE/PI is available. **Methods:** An observational retrospective study of adult, dialysis-dependent aHUS patients with acute kidney injury (AKI) who were treated

with either PE/PI alone or with second-line ecuzumab in our center. We compared the effect of PE/PI and ecuzumab on kidney function, hypertension, proteinuria, hematologic values, relapse, and death. **Results:** Thirty-one patients were included (females, 18; sporadic aHUS, 29; mean age, 46 ± 20 years). Twenty-six patients were treated with PE/PI alone, and 5 were deemed to be plasma-resistant and received ecuzumab after stopping PE/PI. Among patients receiving ecuzumab, 80% attained complete recovery of kidney function, 100% stopped dialysis, 20% had decreased proteinuria, and no patient relapsed (vs. 38.5, 50, 15.4, and 11.5%, respectively, of patients receiving only PE/PI). At 1-year of follow-up, no deaths had occurred in either group. **Conclusion:** Ecuzumab shows greater efficacy than PE/PI alone for the treatment of adult aHUS patients with AKI. Prospective studies and meta-analyses are warranted to confirm our findings and set guidelines for treatment, monitoring, and maintenance.

© 2018 S. Karger AG, Basel

KARGER

© 2018 S. Karger AG, Basel

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/ajn

Mercedes Cao
Department of Nephrology
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña
As Xubias, 84, ES-15006 A Coruña (Spain)
E-Mail mercedes.cao.vilarino@sergas.es

Downloaded by:
Hospital Universitario A Coruña, CC BY
218.33.123.17 - 9/20/2018 2:19:46 PM

Introduction

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is an extremely rare disease that occurs in less than one person in a million [1, 2]. aHUS is characterized primarily by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and kidney failure [3–5]. Marked hypertension may be present and other organs may also be affected, including brain, heart, intestine, lungs and pancreas [3–5]. Prognosis is poor, and death or complete kidney failure occurs in 10 and 60% of patients, respectively [3–5].

The histological lesion that can be found in patients with aHUS is thrombotic microangiopathy (TMA), which is induced by damage to the vascular endothelium of the kidney or other organ resulting from the dysregulation of the alternate complement pathway [6–8]. Such dysregulation is mainly caused by mutations or polymorphisms in genes encoding proteins that regulate the alternate pathway (*CFH*, *CFI*, *MCP*, *THBD*, *C3*, *CFB*, and *CFHR1*) [9–22]. Less frequently, aHUS may be due to autoantibodies that inhibit these complement regulatory proteins such as the anti-*CFH* antibodies [23–25], or to the effect of hybrid genes like *CFHR1/3*, which encodes a fusion protein that antagonizes factor H-dependent complement regulation [26, 27]. Dysregulation leads to uncontrolled generation of the C5 convertase, initiating the formation of the membrane-attack complex at the vascular endothelial cell surface, which causes endothelial cell damage, platelet activation, and thrombus formation [6–8]. Additionally, recessive mutations in *DGKE*, which encodes diacylglycerol kinase- ϵ have recently been reported both in pediatric aHUS patients without complement mutations [28–30] and in patients harboring complement mutations [31].

Treatment of aHUS has traditionally included dialysis for kidney failure and immunosuppression if autoantibodies are present. Before the eculizumab era, plasma therapy (plasma exchange or plasma infusion [PE/PI]) was the only available therapy for the initial treatment of aHUS [32–34]. However, PE/PI is effective in less than 50% of patients and confers no benefit in patients with MCP mutations [4, 35]. In addition, it has been associated with several risks, such as complications associated with vascular access, infection, fluid overload or allergic reactions, among others, especially in small children [36]. Importantly, plasma therapy does not treat the underlying systemic disease and a large majority of patients treated with PE/PI sustain permanent renal damage, progress to end-stage renal disease, or die within one year of diagnosis [37].

Eculizumab (Soliris[®], Alexion Pharmaceuticals, Cheshire, CT, USA) is a recombinant, humanized, monoclonal immunoglobulin G antibody that targets C5, preventing the generation of the membrane-attack complex. Eculizumab has transformed the treatment of aHUS since it was approved by the US Food and Drug Administration and the European Medicines Agency in 2011 [38–42].

Studies of eculizumab in aHUS are constrained by the small number of patients with the disease and therefore include heterogeneous cohorts, in which patients present with various stages of acute kidney injury (AKI) and/or chronic kidney disease (CKD) at baseline, and from different centers, which may imply the use of different PE/PI schedules. Furthermore, they generally measure efficacy in terms of hematologic values rather than kidney function. We have compared the efficacy of PE/PI versus eculizumab in a single-center cohort of adult aHUS patients with homogeneous baseline kidney function and treatment approach: all of them had AKI and were dialysis-dependent, and received PE/PI as initial treatment.

Materials and Methods

Study Design and Patients

This was a single-center observational retrospective study of adult patients diagnosed with aHUS in the Nephrology Service of the Complejo Hospitalario Universitario, A Coruña, Spain. Patients were selected from the hospital registry and data obtained from their medical records in 2015. The main inclusion criteria was a diagnosis of aHUS with a need for dialysis. aHUS was defined as the presence of at least 3 of the following 4 criteria: AKI (plasma creatinine [Cr] > 1.5 mg/dL); hemolytic anemia (hemoglobin < 11 g/dL, lactate dehydrogenase [LDH] \geq 440 U/L, haptoglobin < 36 mg/dL, and schistocytes in peripheral blood); thrombocytopenia (platelet count < $150 \times 10^3 \mu\text{L}$); and/or TMA features in a kidney biopsy specimen (fibrin and platelet-rich thrombi in the glomerulus capillaries and arterioles, endothelial swelling and detachment, and subendothelial accumulation of proteins and cell debris). Exclusion criteria were: no need for dialysis at the time of diagnosis, age < 15 years, follow-up < 4 months or other types of HUS/TMAs – HUS due to an enteric infection by shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC HUS [typical HUS]) or TMA secondary to other infections, pregnancy, drugs or kidney transplantation. Although complement system mutations have been subsequently found in patients with an initial diagnosis of STEC-HUS or different types of secondary TMAs (with aHUS being considered the underlying disease in these cases) [5], following the approved indication of eculizumab we decided to include in our study only those patients with a diagnosis of aHUS, according to the HUS/TMAs classification and diagnostic criteria commonly followed in Spain at that time (aHUS was diagnosed by exclusion, once all the other causes of TMA were ruled out [thrombocytopenic thrombotic purpura, STEC HUS, and secondary TMAs] [43]). In addition, it was of interest to assess eculizumab in adverse conditions, given that aHUS is a chronic relapsing disease

that, before eculizumab, was associated with particularly poor outcomes [5]: the mortality rate after a first episode was up to 15%, and renal function was not recovered in 50% of patients [1, 35, 37]. In contrast, STEC HUS is usually an isolated event with a generally favorable prognosis (mortality rate <5%; complete clinical recovery: 80% [44, 45]), while some secondary TMAs could be successfully managed by mainly addressing the triggering factor and administering plasma therapy [5].

The study was approved by the Institutional Review Board of our hospital and all patients gave their signed, informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki.

Genetic analyses to detect mutations or polymorphisms in complement genes were performed, as described in the online supplementary Methods (for all online suppl. material, see www.karger.com/doi/10.1159/000492865).

Treatment

Following the historical protocol for aHUS in our center, all patients diagnosed with aHUS during the pre-eculizumab era received PE/PI as initial treatment. Once eculizumab became available in Spain (in November 2011), we continued using PE/PI as initial treatment in patients with aHUS for some time, mainly due to the limited experience with the drug (the use of eculizumab as initial treatment in adult patients with aHUS was firstly proposed by the Spanish Group for aHUS in 2013 [43]). However, those aHUS patients in whom the plasma Cr levels did not decrease by at least 25% after the first 5 sessions of PE/PI, or if low platelet count or hemolytic anemia continued, were considered plasma-resistant and were switched to eculizumab (which was administered as an intravenous infusion of 900 mg weekly, for 4 weeks, followed by 1,200 mg at the fifth week, and then 1,200 mg every 2 weeks thereafter). Patients who were not plasma-resistant continued on PE/PI till the platelet number was normal again.

Endpoints and Outcome Measures

The objectives of the study were to compare the effect of PE/PI with that of eculizumab on kidney function, hypertension, proteinuria, hematologic values, relapse, and death at 1-year from diagnosis. Complete recovery of kidney function was defined as stable Cr <1.5 mg/dL, CKD was defined as Cr >1.5 mg/dL and end stage of renal disease as continued need for dialysis. Hypertension was defined as a blood pressure reading >140/90 mm Hg and/or need for anti-hypertensive medication. Proteinuria was defined as ≥ 500 mg in a 24-h period. Normalization of hematologic values was defined as stable hemoglobin count >11 g/dL, LDH ≤ 439 U/L, haptoglobin count >36 mg/dL, and platelet count >150 $\times 10^3$ μ L. Patients were considered to have a relapse if their initial symptoms returned after having attained a stable hematologic recovery.

Statistical Analyses

Quantitative variables were expressed as mean \pm SD, and qualitative variables as absolute values with 95% CI. Variables were compared with the Student *t* test or the Mann-Whitney U test. Association between qualitative variables was determined with the chi-square or the Fisher's exact test. To determine the effect of treatment group (PE/PI versus eculizumab) on outcome measures, we estimated the absolute risk for each group and the relative risk (RR), with 95% CI, in the group treated with eculizumab. All statistical analyses were performed with SPSS version 19.0. Significance was set at $p \leq 0.05$.

Results

Patients

Between 1995 and 2012, 72 patients were diagnosed with aHUS at our center and started PE/PI. Thirty-one of those 72 patients were included in the study (a flow chart of the study with the inclusion and exclusion criteria is shown in online supplementary Figure 1; the first patient of the eculizumab group was switched from PE/PI in October 2012). Table 1 displays the baseline characteristics of patients. The mean age at diagnosis was 46.2 ± 20.14 years, and mean duration of follow-up was 8.36 ± 6.49 years. No significant differences were observed in baseline characteristics between the PE/PI and the eculizumab group. The mean baseline plasma Cr levels were 8.4 ± 5.77 mg/dL for all 31 patients, 8.92 ± 6.19 for those in the PE/PI group, and 5.60 ± 0.82 for those in the eculizumab group. Twenty-nine patients (24 in the PE/PI group and 5 in the eculizumab group) had hypertension requiring medication. Twenty-eight patients had hemolytic anemia (23 in the PE/PI group and 5 in the eculizumab group). Twenty-eight patients had thrombocytopenia (24 in the PE/PI group and 4 in the eculizumab group). LDH levels were above normal in all 31 patients. A kidney biopsy was performed in 11 patients (7 in the PE/PI group and 4 in the eculizumab group). Of which, 10 had thrombi in glomerular and extraglomerular capillaries, while 1 had only glomerular thrombi. None had renal cortical necrosis.

Genetic analyses were performed in 21 patients (16 from the PE/PI group and 5 from the eculizumab group). Among patients in the PE/PI group, 4 had a mutation in *CFH*, one of them combined with a mutation in *MCP*, one carried a *CFHR-1::CFH* hybrid gene, one a putative mutation in *C3*, another had a putative mutation in *CFHR1*, one had both polymorphisms in *CFH* and *MCP* in homozygosis, and 8 had no genetic abnormalities in complement genes. In the eculizumab group, one patient had a mutation in *MCP*, one carried a *CFHR-1::CFH* hybrid gene, and 3 had no genetic abnormalities in complement genes (online suppl. Table 1).

The mean time from diagnosis to start of eculizumab treatment was 32.4 ± 31.9 days. Four patients started eculizumab relatively soon (19.2 ± 14.4 days after diagnosis). The fifth patient started eculizumab 85 days after diagnosis; this patient had previously been diagnosed with CKD and a review of the prior biopsy revealed TMA.

Outcomes

One year after starting treatment, none of the 5 patients in the eculizumab group remained on dialysis. Four had completely recovered kidney function, while

Table 1. Baseline patient characteristics for all patients and according to treatment group

Characteristic	All patients (n = 31), n (%)	PE/PI (n = 26), n (%)	Eculizumab (n = 5), n (%)	p value ^a
Age, years, mean ± SD	46.2±20.14	45.10±19.91	51.73±22.75	0.51
Gender				0.37
Male	13 (41.9)	12 (46.2)	1 (20)	
Female	18 (58.1)	14 (53.8)	4 (80)	
Follow-up, years, mean ± SD	8.36±6.49	9.61±6.37	1.87±0.67	<0.001
Creatinine, mg/dL, mean ± SD	8.4±5.77	8.92±6.19	5.60±0.82	0.48
Type of aHUS ^b				
Familial	2 (6.5)	2 (7.7)	0	–
Sporadic	29 (93.5)	24 (92.3)	5 (100)	
Anemia ^c	28 (90.3)	23 (88.4)	5 (100)	–
>1% of schistocytes	26 (83.8)	21 (80.7)	5 (100)	–
LDH ≥440 UI/L	31 (100) ^d	26 (100)	5 (100)	–
Haptoglobin <36 mg/dL	19 (61.2)	14 (53.8)	5 (100)	1.00
Thrombocytopenia ^e	28 (90.3)	24 (92.3)	4 (80)	0.31
Kidney biopsy ^f				1.00
Glomerular thrombi	1 (9.1)	1 (4.3)	0	
Glomerular/extraglomerular thrombi	10 (90.9)	6 (85.7)	4 (100)	
Diarrhea	10 (32.2)	7 (26.9)	3 (60)	0.31
Hypertension requiring medication	29 (93.5) ^g	24 (92.3)	5 (100)	0.999
Dialysis as initial treatment	31 (100)	24 (92.3)	5 (100)	–

^a p values are for comparison between PE/PI and eculizumab groups.

^b aHUS was defined as familial if any member of the patient's family had the disease.

^c Hemoglobin <11 g/dL.

^d Mean LDH for all patients, 2576 UI/L (SD ±1,805).

^e Platelet count <150 ×10³/μL.

^f A kidney biopsy was performed in 11 patients (7 in the PE/PI group and 4 in the eculizumab group). Percentages are given over number of patients with kidney biopsies.

^g Mean systolic blood pressure for these 29 patients was 164 mm Hg (SD ±29.72) and mean diastolic blood pressure was 91 mm Hg (SD ±18.69).

PE/PI, plasma exchange/plasma infusion; aHUS, atypical hemolytic uremic syndrome.

one had CKD (Cr = 4.46; Fig 1a; Table 2). Thirteen (50%) of the patients in the PE/PI group remained on dialysis, 10 had completely recovered kidney function and 3 had CKD (mean Cr = 4.66 ± 0.71 mg/dL). The mean time to complete recovery of kidney function was 26.20 ± 20.36 days in the eculizumab group and 80.64 ± 226 days in the PE/PI group (Fig. 1b). The probability of complete recovery of kidney function in the eculizumab group was double that of the PE/PI group (RR 2.08; 95% CI 1.08–4.00; Table 3).

At 1 year, 4 (80%) patients in the eculizumab group and 21 (80.8%) in the PE/PI group had hypertension requiring medication, with no difference in RR between the two groups (the evolution of blood pressure in both groups is shown in online suppl. Figure 2). Four (15.4%) patients in the PE/PI group and 1 (20%) in the eculizumab group showed decreased proteinuria. Four (80%) patients in the eculizumab group and 14 (53.8%) in the PE/

PI group had normal hemoglobin and platelet counts. None of the patients in the eculizumab group and 3 (11.5%) in the PE/PI group had relapsed (at 3.87, 6.39, and 9.18 months of treatment). At 1 year, all 31 patients were still alive (Table 2).

Discussion

Previous data on eculizumab in aHUS have generally been derived from case reports or studies of heterogeneous cohorts, in which patients could present at baseline with various stages of AKI and/or CKD, or receive different PE/PI schedules. In addition, none of these works have directly compared eculizumab with PE/PI. This fact is particularly relevant, since the benefits of therapeutic apheresis in aHUS are not clearly established [46]. We have conducted the first observational single-center com-

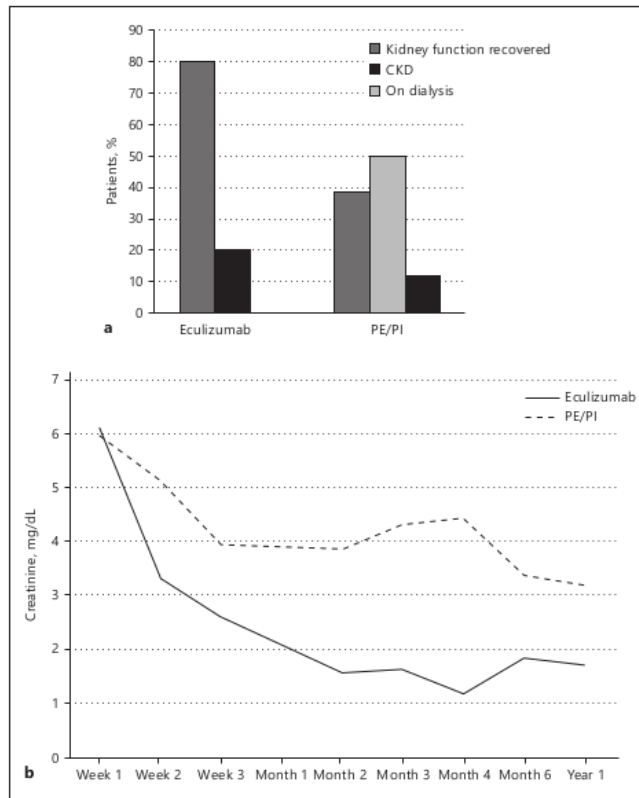


Fig. 1. Kidney function 1 year after the diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome (a) and time from diagnosis to complete recovery of kidney function in 31 patients (b). PE, plasma exchange; PI, plasma infusion; CKD, chronic kidney disease.

parison of eculizumab versus PE/PI in a series of homogeneous adult patients in dialysis for AKI, and with no previous episode of aHUS, to assess the effect of eculizumab on kidney function in a cohort with similar baseline characteristics. To the best of our knowledge, our series is the largest to date in Spain to emphasize recovery of kidney function, rather than normalization of hematologic values, as the primary outcome measure. Our findings suggest that eculizumab is effective in the management of aHUS in adult plasma-resistant patients.

Although patients in the eculizumab group were older than those in the PE/PI group (52 vs. 45 years), 4 of the 5 patients regained complete kidney function, compared to only 38.5% of those in the PE/PI group. Importantly, the RR for recovery of kidney function for the eculizumab

group was double that of the PE/PI group. Moreover, patients in the eculizumab group recovered kidney function earlier and needed dialysis for a shorter time than those in the PE/PI group.

At 1 year after onset, 50% of patients in the PE/PI group remained on dialysis and 11.5% had CKD, while none of the patients in the eculizumab group required dialysis and only 1 had CKD. This patient had previously been diagnosed with CKD with hypertension and proteinuria and a kidney biopsy had been performed. At the time of hospital admission, a review of the biopsy revealed histological lesions characteristic of TMA, with thrombi in glomerular and extraglomerular capillaries.

Our findings are in line with those of two previous multicenter, prospective, phase II trials, which included

Table 2. Outcomes at 1 year after diagnosis according to treatment group

	PE/PI group (n = 26), n (%)	Eculizumab group (n = 5), n (%)	p value
Kidney function			
Complete recovery (Cr <1.5 mg/dL)	10 (38.5)	4 (80)	0.15
Cr level in patients with complete recovery, mg/dL, mean ± SD	1.01±0.28	1.15±0.05	0.53
Time from first episode to complete recovery, days, mean ± SD	80.64±226	26.20±20.36	0.64
CKD (Cr >1.5 mg/dL)	3 (11.5)	1 (20)	0.55
Cr level in patients with CKD, mean ± SD	4.66±0.71	4.46	–
Dialysis			
Time on dialysis, days, mean ± SD	79.28±227	55±25.23	0.54
Continuing on dialysis	13 (50)	0	0.06
Cr level in patients continuing on dialysis, mean ± SD	5.86±4.72	–	–
Hypertension			
Hypertension at first episode	24 (92)	5 (100)	1.00
Hypertension at 1 year	21 (80.8)	4 (80)	1.00
Proteinuria			
Proteinuria >0.5 g/dL	4 (15.4)	1 (20)	1.00
Hematologic values			
Normalization ^a	14 (53.8)	4 (80)	–
Outcomes			
Relapse	3 (11.5)	0	–
Death	0	0	–

^a Hemoglobin >11 g/dL, LDH ≤439 UI/L, haptoglobin >36 mg/dL, platelets >150 ×10³μL.

PE/PI, plasma exchange/plasma infusion; aHUS, atypical hemolytic uremic syndrome; Cr, plasma creatinine; CKD, chronic kidney disease; LDH, lactate dehydrogenase.

Table 3. Relative risk of complete recovery of kidney function, development of CKD, development of ESRD, hypertension and relapse at 1 year

	RR (95% CI)	RR reduction (95% CI)	Absolute risk reduction (95% CI)	Number needed to treat (95% CI)
Complete recovery of kidney function	2.08 (1.08 to 4.00)	–1.08 (–3.00 to –0.08)	–0.42 (–0.81 to –0.102)	3.00 (2.00 to 56.00)
CKD	1.73 (0.22 to 13.48)	–0.73 (–12.48 to 0.78)	–0.08 (–0.46 to 0.29)	12.00 (3.00 to +∞)
ESRD	–	–	0.50 (0.31 to 0.69)	2.00 (2.00 to 4.00)
Hypertension	0.99 (0.60 to 1.60)	0.01 (–0.60 to 0.39)	0.01 (–0.37 to 0.39)	130.00 (3.00 to –3.00)
Relapse	–	–	0.12 (–0.01 to 0.24)	9.00 (5.00 to –135.00)

The probability of complete recovery of kidney function in the eculizumab group was double that of the PE/PI group (RR 2.08; 95% CI 1.08–4.00). In terms of RR, for every 100 patients treated with the study drug, 42 regained kidney function. Therefore, for every 3 patients treated, one renal function is recovered (NNT = 3). Similar results were obtained for CKD.

CKD, chronic kidney disease; ESRD, end-stage renal disease; RR, relative risk; PE/PI, plasma exchange/plasma infusion; NNT, number needed to treat.

a total of 37 aHUS patients treated with eculizumab [39]. The first of these trials included 17 patients with evidence of progressive TMA after 4 or more sessions of PE/PI, but patients were younger (median age, 28 years), aHUS was secondary to kidney transplantation in 7 patients, and only 5 were on dialysis at the time of starting

eculizumab. Dialysis was stopped in 4 of these 5 patients, and they remained dialysis-free throughout eculizumab treatment. Complete recovery of kidney function was not one of the endpoints of the trial, but there was a 25% decrease in Cr levels in all patients except the one requiring permanent dialysis. Moreover, there was

an improvement in CKD of at least one stage in 10 patients and a decrease in proteinuria in 12 patients at week 26.

In contrast, our findings on the efficacy of eculizumab are somewhat stronger than those of the largest study to date evaluating eculizumab in aHUS affecting native kidneys [40]. This retrospective study included 19 patients, all of whom except 3 switched to eculizumab after at least 5 sessions of PE/PI. However, the study included younger patients than our study and only 9 required dialysis at the time of eculizumab initiation. At last follow-up, 9 patients had normal kidney function, 3 remained dialysis-dependent, and 7 had CKD. The authors speculate that these results may be due to a delay in diagnosing aHUS and consequently in starting eculizumab treatment and/or to early discontinuation of eculizumab treatment in 5 patients. Eculizumab may have been interrupted erroneously since recovery of platelet counts may have been misinterpreted as indicating TMA inactivation. These issues reflect the problems inherent in studies with heterogeneous patient cohorts and different clinical practices in the management of aHUS in different centers [39, 40].

Besides the abovementioned studies, a growing number of cases reporting patients with aHUS treated with eculizumab have been published since the approval of the drug for this indication [5, 47]. In line with our results, kidney function was recovered with eculizumab in the majority of the reported cases, and many of the patients in dialysis could stop this. The time range in which patients became dialysis-independent is variable among cases, but in general dialysis could be discontinued during the first 6 months of treatment with eculizumab [5, 47].

In the present study, no patient in the eculizumab group discontinued the drug and, in this regard, it is important to highlight that no aHUS relapses were observed in these patients. This suggests that continued administration of eculizumab can provide effective sustainable control of aHUS, while its discontinuation may increase the risk of relapse, mainly in patients with pathogenic genetic variants [48]. This could be particularly relevant during the first year after the diagnosis of aHUS or the current clinical manifestation of the disease, when relapses are more frequent [2].

Four patients in the eculizumab group and 21 in the PE/PI group showed no improvement in hypertension, while 1 and 4 patients, respectively, still had proteinuria at 1 year. These findings lead us to speculate that these patients may have had kidney damage prior to being di-

agnosed with aHUS. Although the onset of aHUS is usually sudden, it may also be progressive, with patients having subclinical anemia and fluctuating thrombocytopenia but preserved renal function [37]. Our patients may have had a progressive onset, with proteinuria and hypertension as the only symptoms. Alternatively, we can speculate that these patients – especially the older ones – may have had nephroangiosclerosis as well as aHUS.

All patients in our study were alive at 1 year, which suggests that direct admission to a Nephrology Department can lead to a rapid diagnosis of aHUS and a proper management, including the possibility of an early kidney biopsy (if clinically indicated) and greater access to dialysis. Interestingly, in the phase II trial of eculizumab, an earlier intervention (a shorter interval between the current clinical manifestation of aHUS and the administration of the drug) was associated with greater improvements in kidney function [39], while delay in starting eculizumab was postulated as a possible cause of poorer prognosis in the retrospective trial [40]. A recent post-hoc analysis of data from the aHUS phase II studies of eculizumab has found that the improvement between baseline and 1 year in the mean estimated glomerular filtration rate was significantly higher in patients who started treatment with eculizumab ≤ 7 days after the first signs of the last aHUS manifestation versus those patients who started treatment >7 days after first signs of the last aHUS manifestation [49]. In this regard, the current Spanish Consensus recommends starting treatment with eculizumab as early as possible after a clear diagnosis of aHUS, since this approach ensures reversibility of hematological parameters and prevents renal injuries [5].

As with all studies of aHUS, our study is limited by the small number of patients. In addition, since this was not a randomized study, the association between treatments and outcomes cannot be interpreted as a cause-and-effect relationship. Unfortunately, because aHUS is such a rare disease, it is impossible to test eculizumab in a large randomized clinical trial. On the contrary, the exclusion of patients with other types of HUS/TMA in our study might have led to the non-inclusion of dialysis-dependent patients who may have responded differently to PE/PI or eculizumab. As cases of secondary TMA were excluded as part of our study design, this study does not provide any evidence to support the restriction of eculizumab use to primary aHUS. Our study is also limited in that we were not able to demonstrate a relation between mutations in complement genes and prognosis in our patients because genetic analyses were

performed in only 21 patients. The frequency in genetic variants was similar in both groups, but in the PE/PI group there were a few patients with high-risk mutations (including *CFH* and *C3* mutations, which are associated with poorer outcomes [5]). However, it must be stressed that eculizumab has been shown to be efficacious in patients with or without the different types of aHUS mutations [39]. Prospective trials with larger numbers of patients, controlled for selection bias and confounding variables and with genetic analyses included in the study design, are warranted to confirm and expand upon our findings. Despite these limitations, our study has the advantage of being a single-center study, which has eliminated any confounding differences in the clinical management of patients. Furthermore, this is the first study to directly compare the impact of eculizumab and PE/PI specifically on kidney function in dialysis-dependent patients.

In conclusion, our findings indicate that eculizumab is effective in the treatment of aHUS in adults with AKI. Treatment should be started early – if possible, as first-line treatment – and caution and close monitoring are necessary at the time of discontinuation. Improvement in kidney function should take priority over normalization of hematologic values in monitoring treatment. Further studies and meta-analyses are warranted to confirm the

role of eculizumab in the treatment of aHUS, to establish the optimal treatment schedule, and to determine if hypertension and proteinuria are symptoms of insufficiently treated progressive TMA.

Acknowledgements and Funding Source

S.R.C.: is supported by the Spanish “Ministerio de Economía y Competitividad” (SAF2015–66287R) and the Seventh Framework Programme European Union Project EURenOmics (305608). F.V.C.: was supported by the “Conselleria de Sanidade.” Xunta de Galicia.

Disclosure Statement

M.C., F.V., A.A., C.F., and S.R.C.: have participated in advisory boards organized by Alexion Pharma, Spain. The other authors declare no competing financial interests.

Author’s Contributions

M.C.: designed the study and interpreted the data, drafted the article and approved the final version to be published. B.L., T.F., M.C., C.F., A.A., A.R., P.S., R.S., S.P., E.A., S.R.C., and F.V.: interpreted the data, critically reviewed the draft and approved the final version to be published.

References

- 1 Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, 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; 5:1844–1859.
- 2 Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, et al: Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:554–562.
- 3 Noris M, Remuzzi G: Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;361:1676–1687.
- 4 Loirat C, Fremeaux-Bacchi V: Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- 5 Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, et al: An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia* 2015;35:421–447.
- 6 Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, Halbwachs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V: Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods* 2011; 365:8–26.
- 7 George JN, Nester CM: Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014; 371:1847–1848.
- 8 Rodriguez de Cordoba S, Hidalgo MS, Pinto S, Tortajada A: Genetics of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). *Semin Thromb Hemost* 2014;40:422–430.
- 9 Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, Pirson Y, Nicholls A, Ward RM, et al: Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 1998;53:836–844.
- 10 Caprioli J, Castelletti F, Bucchioni S, Bettinaglio P, Bresin E, Pianetti G, 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 Genet* 2003;12:3385–3395.
- 11 Perez-Caballero D, Gonzalez-Rubio C, Gallardo ME, Vera M, Lopez-Trascasa M, Rodriguez de Cordoba S, et al: Clustering of missense mutations in the C-terminal region of factor H in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet* 2001;68:478–484.
- 12 Sanchez-Corral P, Perez-Caballero D, Huarte O, Simckes AM, Goicoechea E, Lopez-Trascasa M, et al: Structural and functional characterization of factor H mutations associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet* 2002;71:1285–1295.
- 13 Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Blouin J, Vigneau C, Kuypers D, Boudalliez B, et al: Complement factor I: a susceptibility gene for atypical haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet* 2004;41:e84.
- 14 Kavanagh D, Kemp EJ, Mayland E, Winney RJ, Duffield JS, Warwick G, et al: Mutations in complement factor I predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2150–2155.
- 15 Noris M, Brioschi S, Caprioli J, Todeschini M, Bresin E, Porrati F, et al: Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation. *Lancet* 2003;362:1542–1547.
- 16 Richards A, Kemp EJ, Liszewski MK, Goodship JA, Lampe AK, Decorte R, et al: Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), predispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100: 12966–12971.

- 17 Esparza-Gordillo J, Goicoechea de Jorge E, Buil A, Carreras Berges L, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P, et al: Predisposition to atypical hemolytic uremic syndrome involves the concurrence of different susceptibility alleles in the regulators of complement activation gene cluster in 1q32. *Hum Mol Genet* 2005;14:703–712.
- 18 Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrel G, et al: Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009;361:345–357.
- 19 Fremeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, Strain L, Blouin J, Brown AL, et al: Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2008;112:4948–4952.
- 20 Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J, Carreras L, Arranz EA, Garrido CA, et al: Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:240–245.
- 21 Abarrategui-Garrido C, Martinez-Barricarte R, Lopez-Trascasa M, de Cordoba SR, Sanchez-Corral P: Characterization of complement factor H-related (CFHR) proteins in plasma reveals novel genetic variations of CFHR1 associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2009;114:4261–4271.
- 22 Bernabeu-Herrero ME, Jimenez-Alcazar M, Anter J, Pinto S, Sanchez Chinchilla D, Garrido S, et al: Complement factor H, FHR-3 and FHR-1 variants associate in an extended haplotype conferring increased risk of atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol* 2015;67:276–286.
- 23 Dragon-Durey MA, Loirat C, Cloarec S, Macher MA, Blouin J, Nivet H, et al: Anti-Factor H autoantibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:555–563.
- 24 Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A, Blanc C, Blouin J, Ranchin B, et al: Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:2180–2187.
- 25 Jozsi M, Licht C, Strobel S, Zipfel SL, Richter H, Heinen S, et al: Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* 2008;111:1512–1514.
- 26 Venables JP, Strain L, Routledge D, Bourn D, Powell HM, Warwicker P, et al: Atypical haemolytic uraemic syndrome associated with a hybrid complement gene. *PLoS Med* 2006;3:e431.
- 27 Valoti E, Alberti M, Tortajada A, Garcia-Fernandez J, Gastoldi S, Besso L, et al: A novel atypical hemolytic uremic syndrome-associated hybrid CFHR1/CFH gene encoding a fusion protein that antagonizes factor H-dependent complement regulation. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:209–219.
- 28 Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M, et al: Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet* 2013;45:531–536.
- 29 Westland R, Bodria M, Carrea A, Lata S, Scolarì F, Fremeaux-Bacchi V, et al: Phenotypic expansion of DGKE-associated diseases. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1408–1414.
- 30 Mele C, Lemaire M, Iatropoulos P, Piras R, Bresin E, Bettoni S, 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;10:1011–1019.
- 31 Sanchez Chinchilla D, Pinto S, Hoppe B, Adragna M, Lopez L, Justa Roldan ML, et al: Complement mutations in diacylglycerol kinase-epsilon-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9:1611–1619.
- 32 Loirat C, Sonsino E, Hinglais N, Jais JP, Landais P, Fermanian J: Treatment of the childhood haemolytic uraemic syndrome with plasma. A multicentre randomized controlled trial. *The French Society of Paediatric Nephrology. Pediatr Nephrol* 1988;2:279–285.
- 33 Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS: Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med* 1991;325:398–403.
- 34 George JN: How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2000;96:1223–1229.
- 35 Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al: Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108:1267–1279.
- 36 Michon B, Moghrabi A, Winikoff R, Barrette S, Bernstein ML, Champagne J, et al: Complications of apheresis in children. *Transfusion* 2007;47:1837–1842.
- 37 Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al: Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2392–2400.
- 38 Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, et al: Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant* 2012;12:3337–3354.
- 39 Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al: Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013;368:2169–2181.
- 40 Fakhouri F, Delmas Y, Provot F, Barbet C, Karras A, Makkdassi R, et al: Insights from the use in clinical practice of eculizumab in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome affecting the native kidneys: an analysis of 19 cases. *Am J Kidney Dis* 2014;63:40–48.
- 41 Licht C, Greenbaum LA, Muus P, Babu S, Bedrosian CL, Cohen DJ, et al: Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int* 2015;87:1061–1073.
- 42 Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al: An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31:15–39.
- 43 Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa M, Grinyo JM, et al: An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia* 2013;33:27–45.
- 44 Siegler R, Oakes R: Hemolytic uremic syndrome: pathogenesis, treatment, and outcome. *Curr Opin Pediatr* 2005;17:200–204.
- 45 Oakes RS, Siegler RL, McReynolds MA, Pysher T, Pavia AT: Predictors of fatality in post-diarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics* 2006;117:1656–1662.
- 46 Schwartz J, Padmanabhan A, Aquilino N, Balogun RA, Connelly-Smith L, Delaney M, et al: Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the seventh special issue. *J Clin Apher* 2016;31:149–162.
- 47 Rodriguez-Osorio L, Ortiz A: Timing of eculizumab therapy for C3 glomerulonephritis. *Clin Kidney J* 2015;8:449–452.
- 48 Fakhouri F, Fila M, Provot F, Delmas Y, Barbet C, Chatelet V, et al: Pathogenic variants in complement genes and risk of atypical hemolytic uremic syndrome relapse after eculizumab discontinuation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017;12:50–59.
- 49 Walle JV, Delmas Y, Ardissino G, Wang J, Kincaid JF, Haller H: Improved renal recovery in patients with atypical hemolytic uremic syndrome following rapid initiation of eculizumab treatment. *J Nephrol* 2017;30:127–134.



CASE REPORT

Two cases of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA): a possible relationship

Mercedes Cao¹ · Tamara Ferreiro¹ · Bruna N. Leite¹ · Francisco Pita¹ · Luis Bolaños¹ · Francisco Valdés¹ · Angel Alonso¹ · Eduardo Vázquez² · Juan Mosquera² · María Trigás³ · Santiago Rodríguez⁴

Received: 15 June 2016 / Accepted: 4 February 2017 / Published online: 1 March 2017
© Japanese Society of Nephrology 2017

Abstract Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a rare disease characterized by hemolysis, thrombocytopenia, and renal failure. It is related to genetic mutations of the alternative complement pathway and is difficult to differentiate from other prothrombotic microangiopathies. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA) (Churg–Strauss syndrome, CSS) is a systemic ANCA-associated vasculitis and a hypereosinophilic disorder where eosinophils seem to induce cell apoptosis and necrosis and therefore, vasculitis. Here, we report the case of two CSS patients with a genetic complement disorder consistent with aHUS diagnosis. Both patients showed histologic features that supported the diagnosis of CSS, and a genetic complement study confirmed the suspected aHUS diagnosis. In the case where eculizumab was administered, the global response was excellent. There is very limited understanding of the genetics and epidemiology of both, atypical HUS and EGPA, but considering our two patients we suggest that an etiopathogenic link exists among patients diagnosed with both entities.

Keywords aHUS · EGPA · Churg–Strauss syndrome · ANCA · Vasculitis · Eosinophilia · Eculizumab · TMA · Complement

Introduction

Hemolytic uremic syndrome (HUS) is a rare disease characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute kidney injury. Typical HUS accounts for over 90% of cases and atypical HUS (aHUS) or non-Shiga-toxin-HUS accounts for 5–10% of cases. aHUS prognosis is poor and the disease is characterized by over-activation of the alternative complement pathway. aHUS causes inflammation, platelet activation and thrombotic microangiopathy (TMA), which induce multisystem failure or even death [1, 2]. Genetic alteration could be the basis of complement dysregulation but environmental contributions are also essential to trigger the disease. Traditionally, aHUS treatment included plasma infusion (PI) and plasma exchange (PEX); however, the underlying complement dysregulation and thrombotic microangiopathic processes are likely to persist with these therapies. Relapses are frequent and 65% of patients die, require dialysis, or develop permanent renal damage within the first year of diagnosis despite treatment with PI or PEX [3]. A deeper understanding of the pathogenesis of the disease has led to the successful introduction of eculizumab. Eculizumab is a complement inhibitor and it has demonstrated to be effective in over 80% of patients in controlling hemolysis and improving renal function [4].

Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA) (Churg–Strauss syndrome, CSS) is a systemic ANCA-associated vasculitis and a hypereosinophilic disorder [5]. Lung involvement typically occurs in people with asthma

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s13730-017-0251-8) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Mercedes Cao
mercedes.cao.vilarino@sergas.es

- ¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario A Coruña, A Coruña, Spain
- ² Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario A Coruña, A Coruña, Spain
- ³ Servicio de Medicina Interna, Hospital Arquitecto Marcede, El Ferrol, A Coruña, Spain
- ⁴ Departamento de Medicina Celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, Spain

but clinical presentations are heterogeneous. Pathogenesis remains unclear but apparently T and B cells are involved. Eosinophils might induce cell apoptosis and necrosis and, therefore, vasculitis. Pathological triad includes necrotizing vasculitis, eosinophilic infiltration and extravascular granuloma formation [6]. Clinical renal involvement is uncommon. As regards to the therapy, glucocorticoids and cyclophosphamide may be helpful. Azathioprine or methotrexate is also used. Biologic therapies are currently under investigation [7–10].

In CSS, the most commonly involved organ is the lung, followed by the skin. However, CSS can affect any organ system, including the cardiovascular, gastrointestinal, renal and central nervous systems. Vasculitis of extrapulmonary organs is largely responsible for the morbidity and mortality associated.

The association of eosinophilia with TMA is unusual. Some authors describe that eosinophil degranulation may produce endothelial injury in the renal microvasculature to trigger TMA [11–14]. We report what we believe are the first two cases of Churg–Strauss syndrome (CSS) associated with aHUS.

Case report 1

A 50-year-old man was admitted to our institution because of dyspnea, weakness and malaise lasting 4 weeks. He had high blood pressure, eosinophilia and an acute renal failure. The patient's history demonstrated hypertension under two control drugs, recurrent nasal polyposis, chronic sinusitis and mild asthma ongoing for 3 years. He had never smoked. He had been under a renal evaluation for the previous 2 years due to a progressive increase in creatinine levels up to 1.5 mg/dL, associated with mild proteinuria (0.5 g/24 h), hematuria and a slight decrease in C3 levels. Otherwise, the complete blood count was normal. A renal biopsy was performed. Histological features were suggestive of TMA (Figs. 1, 2, 3). Retinal hemorrhage was found on fundoscopic exam. Based on the results, renal failure was attributed to malignant hypertension and antihypertensive therapy was increased.

However, 1 month later, the patient was admitted at the hospital and his creatinine level had increased to 6.49 mg/dL. He also developed acute hypoxic respiratory failure, likely due to flash pulmonary edema. At that moment, blood pressure was high (160/100 mmHg) but there was no clinical or laboratory evidence of hemolysis (Fig. 4). Further investigations showed proteinuria of 1.68 g/24 h, hyper eosinophilia associated with high Ig E and tryptase levels (Table 1).

Immunology, coagulation and microbiological studies were normal or negative (ANA, pANCA, cANCA,

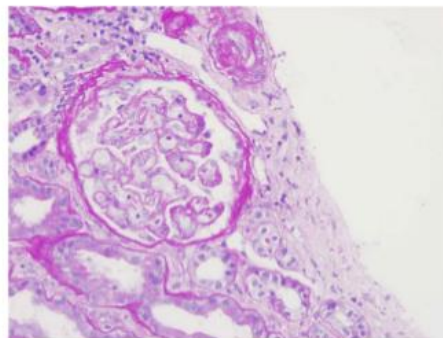


Fig. 1 Glomerular ischemic changes; glomerular lumen reduction, basement membrane double contours and aneurysmatic dilatation of some capillary loops

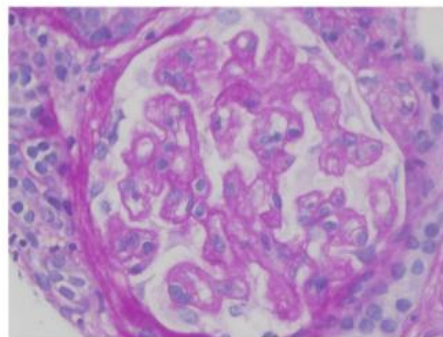


Fig. 2 At higher magnification, wrinkling and duplication of the glomerular basement membrane is more evident

anti-GBM, cryoglobulinemia, immunoglobulins A, G, M and complement levels included. Coombs, ADAMTS 13). 6 days after admission, renal dysfunction persisted despite adequate blood pressure control. Therefore, a new renal biopsy was performed revealing diffuse interstitial eosinophilic infiltration that was not present in the previous biopsy (Fig. 5, Supplementary Figures). IFI technique showed mesangial and capillary walls diffuse and widespread IgM deposits of granular type. C3 deposits were less intense. Deposits of C4 were present in arterial segments of focal and segmental type. C1q deposits were similar to C3 and followed the same distribution.

Chronic TMA changes were also observed. Considering the previous history of asthma, eosinophilia >10%,

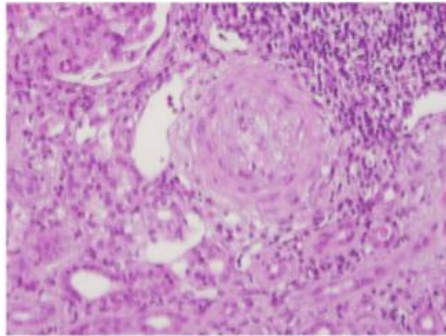


Fig. 3 Vascular lesion, concentric thickening of the intima, with concentric reduction of the luminal area

paranasal sinus abnormality and extravascular eosinophils, diagnosis of Churg–Strauss syndrome was established. Treatment with high-dose intravenous steroids (500 mg for 3 days) and cyclophosphamide (0.5 g/m²) was initiated, which yielded a decrease in eosinophil count and clinical improvement. Yet, renal function did not recover; hence, permanent hemodialysis was initiated, creating an upper-arm native arteriovenous fistula. Unexpectedly, within few hours after the procedure, a hematoma expanded around the fistula. Laboratory results at that moment were suggestive of TMA (Fig. 4). Consequently, the patient was diagnosed with hemolytic-uremic syndrome (HUS). Following several daily PEX procedures, the patient suffered from aphasia, vision loss, somnolence and stupor; therefore, ICU admission was required. Brain CT scan showed a right parietal lobar hematoma with ipsilateral ventricle collapse and a minor left temporal.

Due to the high risk of cerebral hemorrhage while under PEX treatment, eculizumab was initiated (900 mg every week). Previous to treatment initiation, a single dose of meningococcal vaccine and prophylactic antibiotic were administered to prevent meningococcal infection. 48 h after the first dose of eculizumab, neurological symptoms dramatically improved. After the second dose renal function began to improve. Hemodialysis was discontinued after the third dose and hemolysis parameters had normalized at the fourth dose. Maintenance therapy of 1200 mg every 2 weeks was prescribed. After administration of only one bolus of cyclophosphamide (0.5 g/m²) and low doses of steroids (10 mg/day) the patient did not present eosinophilia nor respiratory tract manifestations. Complete neurological recovery was achieved after 6 months and only residual abnormalities were detected on the CT scan. After 18 months of follow-up, hematological parameters were normal and the patient remained hemodialysis-free. (CCR of 25–30 mL/min).

Several months later, genetic analysis revealed a mutation in the complement factor H (CFH) gene. A risk polymorphism in CFH in heterozygosis: (c. 1231T>Tc; p. Ser411Thr) in exon 9, was detected. This mutation is not defined in the Exome Sequencing Project (ESP). This mutation implies the loss of signal in the exon 6 of CFHR1, and gain of signal in the exon 23 of CFH. This mutation confers a poor prognosis, since CFHR1 acts as a competitive antagonist of Factor H, and amplifies the degree of CFH's dysregulation.

Case report 2

A 52-year-old woman presented to the emergency of our hospital with complaint of cutaneous lesions in the feet and weakness in the arms and legs. Medical history was unknown. She had never smoked, and no

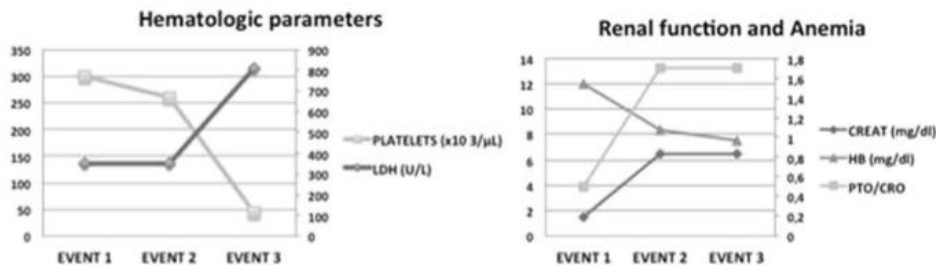


Fig. 4 Evolution of renal and hematologic parameters throughout the three episodes described. *Event 1*: No severe hemolytic and renal alterations. *Event 2*: AKI+minor proteinuria. No hemolytic parameters. *Event 3*: Severe alteration of renal function (hemodialysis) and hemolysis

Table 1 Laboratory, image, microbiology, immunology and genetic results of both cases with diagnosis of vasculitis ANCA + (Churg–Strauss syndrome)

Vasculitis (CSS)	Case 1 (aHUS)	Case 2 (EGPA)
Main symptoms	Dyspnea + HTA + AKI + central neurological deficits	Cutaneous lesion + peripheral neurological deficits
Backgrounds	HTA + nasal polyposis + chronic sinusitis + asthma	Asthma
Hemoglobin (mg/dL)	7.5	12
Platelets (10^9 /L)	44	548
Eosinophils (10^6 /L)	3.79 (29%)	16.491 (69%)
LDH (U/L)	808	802
Schistocytosis	Positive	Negative
Triphasa	–	19.8 (0–11)
Ig E (ku/L)	284	814
Coagulation	Normal	Normal
Immunology	Negative	PR3-, MPO +(1:98), ANA +(1:80)
Serology	Negative	Epstein Barr +
Stool culture	Negative	Negative
Chest X-ray	Pulmonary edema	Normal
Brain CT/EMG	Parietal and temporal lobar hematoma	Peripheral polyneuropathy
Biopsy	Kidney: diffuse interstitial eosinophilic infiltration + TMA features	Skin: dermatitis with abundant eosinophilic infiltration
Genetic study	CFH risk polymorphism (c. 1231T> To; p. Ser411Thr) (heterozygosis)	Mother: MCP (c.286+2T> G), CFI (c.1534+5G> T), CFH risk haplotype (homozygous) Daughter: MCP (c.286+2T), CFI (homozygous)

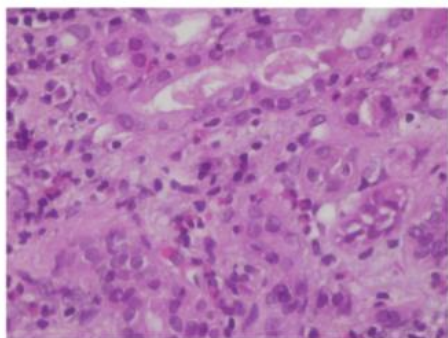


Fig. 5 Eosinophilic infiltration

arterial hypertension, dyslipidemia or diabetes mellitus was reported. She had chronic bronchial asthma, which was treated with bronchodilators and inhalatory steroids. A month after completion of steroid treatment for an asthma outbreak, the patient presented with blistering skin lesions in the sacral region that were considered and treated as Herpes zoster, resolving in around 1 week. Subsequently, she presented with symptoms of progressive weakness of

the lower extremities, with paresthesia, dysesthesia and hypoesthesia. She was evaluated by a neurologist, who diagnosed sacral polyradiculoneuritis at L5–S1, of probable herpetic etiology. Because of this, treatment with oxcarbazepine was initiated, leading to progressive remission of the paresthesia and dysesthesia, but with persistence and progression of lower limbs' weakness. This created difficulties in ambulation and was also associated with asymmetrical distal upper limb weakness (predominantly in the left upper limb). The previous week, she noticed the appearance of new bullous of different size, tense and confluent or broken lesions in the dorsum of both feet and in the soles, which resembled those in the sacral region. During this period, she experience a weight lost of 10 kg. No other infectious processes, diarrhea or digestive or urinary alterations were reported.

At physical examination, the patient was in a good general state, although with a slight cutaneous-mucous paleness. She was normotensive, normohydrated, not dyspneic, with temperature of 37.2 °C. Neurological examination confirmed the symptoms reported by the patient. Laboratory analysis revealed hyper eosinophilia, high levels of IgE, ANA and MPO antibodies (PR3 negative). Also, IgG and IgM for EBV was positive. The rest of the analysis was otherwise normal (Table 1). Neuromuscular function was assessed by electromyography (EMG) and

electroneurography. Severe decreases in the motor and sensory amplitudes of the median, cubital and radial nerves in the right and left upper limb were detected. These were suggestive of diffuse, asymmetrical peripheral sensorimotor axonal neuropathy, corresponding to a polyneuropathic pattern.

Skin biopsy confirmed blistering dermatitis with abundant eosinophilic infiltration, compatible with Wells syndrome. IF was negative. Given the previous history and the presence of p-ANCA, while supportive but not necessary, a diagnosis of EGPA was established. Treatment with glucocorticoids and cyclophosphamide was started. In parallel, rehabilitation treatment was initiated, which led to a relative improvement and the patient could walk some steps with support. She was then discharged from the hospital.

There was a progressive improvement, with a maintenance treatment of cyclophosphamide and steroids, although difficulty in ambulation persisted, and the patient walked with a step-page gait and had symptoms of peripheral paresthesia and dysesthesia, mainly in feet.

1 year later, her daughter was diagnosed with aHUS. A genetic study showed that she carried a mutation in MCP (c.286+2T) and complement factor I genes. Besides, she was homozygous for the risk CFH haplotype. A genetic analysis of the mother (our patient in this case) revealed mutations in those same genes (Table 1) although she has never shown any symptoms suggestive of aHUS.

Discussion

Hemolytic uremic syndrome (HUS) is part of a spectrum of thrombotic microangiopathies [1]. The most common etiologies of HUS are the ones seen in childhood caused by an infection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, those caused by an infection with *Streptococcus pneumoniae* and HUS due to abnormalities in the alternative pathway of the complement system [2]. The analysis of genes encoding for complement regulatory proteins is a valuable diagnostic tool in patients with HUS [15].

Regulators of the alternative complement pathway, such as CFH, CFI and MCP, play an important role in the pathogenesis of aHUS [15, 16]. Abnormalities in genes encoding these complement regulatory proteins have been reported. Based on these data, it has recently been suggested that aHUS patients probably have a specific genetic complement profile, which makes them vulnerable to develop aHUS, especially in the presence of certain triggers [17]. Examples of environmental triggers are infections, pregnancy, drugs, surgery or hematopoietic stem cell transplantation. The role of these environmental triggers deserves special attention. In an individual patient, it is impossible to discern if the underlying condition is the sole cause of

aHUS. Thus, an evaluation of the complement system must always be considered in patients with otherwise 'explained' HUS [18].

We report two cases of EGPA. In the first case, the patient developed hemolytic anemia secondary to aHUS and a life-threatening hemorrhagic stroke. In this patient, it was difficult to assess the primary cause of renal failure. This could be either explained because of (a) TMA secondary to malignant hypertension or (b) aHUS, but with normal LDH levels and lack of schistocytes on the initial analysis. Malignant hypertension was the first contemplated diagnosis, considering that hemolysis intensity is higher in aHUS than in malignant hypertension. However, the presence of TMA features in renal biopsy led us to consider the diagnosis of aHUS. More so as up to 20% of cases could be subclinical (without hemolysis and thrombocytopenia), with a poorer prognosis. In this uncommon scenario, patients develop a silent chronic renal failure with progressively increasing proteinuria [1–4]. In this case, it is noteworthy that a second renal biopsy was suggestive of EGPA as a cause of renal failure. The absence of ANCA or fibrinoid necrosis of the artery does not exclude the diagnosis. In addition, only 10 days later, a dramatic aHUS flare occurred 48 h after vascular surgery. In our opinion, the patient had a progressive subclinical renal failure secondary to aHUS. Over this condition, an unknown environmental factor triggered EGPA onset and probably the mean AKI cause in this case. Then, vascular surgery set off a near-fatal aHUS flare.

In the second case, a patient with a history of bronchial asthma, eosinophilia and peripheral neuropathy was admitted to the hospital due to skin lesions and loss of strength, predominantly distal, which impeded ambulation and standing. Her daughter was diagnosed with aHUS and genetic analysis revealed a pathogenic mutation in MCP in both mother and daughter.

Although several cases of hypereosinophilia and TMA have been reported [11–14], to date, very little evidence supports this association. However, a recent case published by Fukui et al. [19] describes a case with TMA and EGPA and TMA history has been reported in pediatric patients with aHUS [20]. Therefore, considering all the facts, it might be possible that a relationship between EGPA and aHUS exists. It may be that both entities share a genetic base and both diseases are manifested only when patients are exposed to certain environmental factors. Nevertheless, it is well described that a silent genetic alteration in the complement system may be manifested in the context of endothelial cell damage [17]. Both conditions could induce endothelial cell injury and the manifestation of aHUS: in the case of CSS, the discharge of eosinophil granule proteins may induce cell apoptosis and necrosis, producing vasculitis. However, we could miss other factors since, as

observed in clinical case 2, even in the presence of severe eosinophilia (1.6×10^8 /L) and genetic background that confers susceptibility, there is neither hemolysis nor kidney failure. In the case of vascular surgery, the damage would be direct.

Eculizumab is a monoclonal antibody that binds specifically to the complement protein C5, blocking the complement cascade and inhibiting the production of cell-killing protein complexes, which may modify the disease progression [17, 18]. Furthermore, in contrast to PEX, eculizumab treatment seems to be effective in aHUS regardless of the underlying complement mutation [17]. Despite plasma therapy is considered the standard treatment for aHUS, many do not respond [21]. No effect is expected in patients with a mutation in MCP [22, 23]. Based on the results of two recently published prospective open label phase 2 trials and a retrospective analysis of a cohort of treated children, eculizumab was approved for treatment of aHUS [24, 25]. The data suggest that the more rapid the initiation of therapy with eculizumab is, the greater the improvements in renal function; preferably within 1 week after disease onset [25]. Consequently, in a patient responding poorly to PEX therapy, eculizumab might be initiated [26–32]. In cases where diagnosis of aHUS is known at the time of acute presentation (previous mutation studies), first-line therapy with eculizumab should be considered in place of PEX [19, 21]. In our patient, eculizumab led to hemodialysis cessation even in the presence of severe and chronic lesions. Indeed, the patient remained with glomerular filtration above 20 mL/min after 18 months. Nevertheless, renal function recovery was not complete, probably due to delayed eculizumab introduction and presence of a mutation that confers a poor prognosis.

New drugs are under investigation in phase I and phase II trials. Some of them include anti-C5 antibodies (which are more purified, less immunogenic and absorbed orally) [33], and anti-C3 antibodies (which are more powerful, but potentially less safe). Additionally, infusions of recombinant complement-regulatory proteins are a potential future therapy [34].

In conclusion, aHUS and CSS are two rare diseases whose etiopathogeneses are thought to be different. Therefore, their co-existence should be exceptional. However, a genetic link might be plausible among patients suffering from both. Although very little evidence supports this association so far, our two cases are quite suggestive of this connection. It would be of great interest to report some similar cases in order to confirm or dismiss this possible relationship.

Acknowledgements The authors thank the publishing support of the draft of this manuscript to Nature Publishing Group Iberoamérica and to Drs. Beatriz Rodríguez Cubillo and Pablo Rivas.

Compliance with ethical standards

Availability of data and materials Not applicable.

Conflict of interest The authors declare not to have conflict of interest.

Ethics and consent to participate Written informed consent was obtained from the patient for publication of this case report. A copy of the written consent is available for review by the editor.

References

1. Salvadori M, Bertoni E. Update on hemolytic uremic syndrome: Diagnostic and therapeutic recommendations. *World J Nephrol.* 2013;2(3):56–76.
2. Besbas N, Karpman D, Landau D, Lóirat C, Proesmans W, Remuzzi G, et al. A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int.* 2006;70(3):423–31.
3. Barbour T, Johnson S, Cohnen S, Hughes P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc-Eur Ren Assoc.* 2012;27(7):2673–85.
4. Noris M, Mescia F, Remuzzi G. STEC-HUS, atypical HUS and TTP are all diseases of complement activation. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8(11):622–33.
5. Scott DG, Watts RA. Epidemiology and clinical features of systemic vasculitis. *Clin Exp Nephrol.* 2013;17(5):607–10. doi:10.1007/s10157-013-0830-8 (Epub 2013 Jul 11. Review).
6. Mahr A, Moosig F, Neumann T, Szczeklik W, Taille C, Vaglio A, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg–Strauss): evolutions in classification, etiopathogenesis, assessment and management. *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26(1):16–23.
7. Taniguchi M, Tsurikisawa N, Higashi N, Saito H, Mita H, Mori A, et al. Treatment for Churg–Strauss syndrome: induction of remission and efficacy of intravenous immunoglobulin therapy. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol.* 2007;56(2):97–103.
8. Mohammad AJ, Hot A, Arndt F, Moosig F, Guerry M-J, Amudala N, et al. Rituximab for the treatment of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg–Strauss). *Ann Rheum Dis.* 2014;75(2):396–401. doi:10.1136/annrheumdis-2014-206095
9. Kim S, Marigowda G, Oren E, Israel E, Wechsler ME. Mepolizumab as a steroid-sparing treatment option in patients with Churg–Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(6):1336–43.
10. Moosig F, Gross WL, Herrmann K, Bremer JP, Hellmich B. Targeting interleukin-5 in refractory and relapsing Churg–Strauss syndrome. *Ann Intern Med.* 2011;155(5):341–3.
11. Liapis H, Ho AK, Brown D, Mindel G, Gleich G. Thrombotic microangiopathy associated with the hypereosinophilic syndrome. *Kidney Int.* 2005;67(5):1806–11.
12. Yuste C, Quiroga B, Verde E, Barraca D, Reque JE, Perez de Jose A, et al. The non-casual relation between eosinophilia and thrombotic microangiopathy. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis.* 2012;47(3):365–7.
13. Nakamura Y, Arai Y, Gunji H, Arai H, Nakamura F, Handa T, et al. Hypereosinophilic syndrome developing after prednisolone therapy for autoimmune hemolytic anemia. *Rinsho Ketsueki.* 2003;44(11):1117–9.

14. Tamura J, Jinbo T, Murata N, Itoh K, Murakami H, Take H, et al. Autoimmune hemolytic anemia with eosinophilia in elderly patient. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi Jpn J Geriatr.* 1996;33(8):603–6.
15. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2010;5(10):1844–59.
16. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, 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.
17. Cataland SR, Wu HM. How I treat: the clinical differentiation and initial treatment of adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2014;123(16):2478–84.
18. Verhave JC, Wetzels JFM, van de Kar NCAJ. Novel aspects of atypical haemolytic uraemic syndrome and the role of eculizumab. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc Eur Ren Assoc.* 2014;29(Suppl 4):iv131–41.
19. Fukui S, Iwamoto N, Tsuji S, Umeda M, Nishino A, Nakashima Y, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis with thrombotic microangiopathy: is simultaneous systemic lupus erythematosus associated with clinical manifestations? A case report and review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(45):e1943.
20. Ito N, Hataya H, Saida K, Amano Y, Hidaka Y, Motoyoshi Y, et al. Efficacy and safety of eculizumab in childhood atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol.* 2016 Apr;20(2):265–72. doi:10.1007/s10157-015-1142-y (Epub 2015 Jul 9).
21. Nayer A, Asif A. Atypical hemolytic-uremic syndrome: a clinical review. *Am J Ther.* 2016;23(1):e151–e8.
22. Richards A, Kathryn Liszewski M, Kavanagh D, Fang CJ, Moulton E, Fremeaux-Bacchi V, et al. Implications of the initial mutations in membrane cofactor protein (MCP; CD46) leading to atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol.* 2007;44(1–3):111–22.
23. Brocklebank V, Wong EKS, Fielding R, Goodship THJ, Kavanagh D. Atypical haemolytic uraemic syndrome associated with a mutation triggered by. *Clin Kidney J.* 2014;7(3):286–8.
24. Mache CJ, Acham-Roschitz B, Fremeaux-Bacchi V, Kirschfink M, Zipfel PF, Roedel S, et al. Complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2009;4(8):1312–6.
25. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 2013;368(23):2169–81.
26. Nester CM, Brophy PD. Eculizumab in the treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome and other complement-mediated renal diseases. *Curr Opin Pediatr.* 2013;25(2):225–31.
27. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8(11):643–57.
28. Gulleroglu K, Fidan K, Hancer VS, Bayrakci U, Baskin E, Soylemezoglu O. Neurologic involvement in atypical hemolytic uremic syndrome and successful treatment with eculizumab. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2013;28(5):827–30.
29. Green H, Harari E, Davidovits M, Blickstein D, Grossman A, Gafer U, et al. Atypical HUS due to factor H antibodies in an adult patient successfully treated with eculizumab. *Ren Fail.* 2014;36(7):1119–21.
30. Ardissino G, Testa S, Possenti I, Tel F, Paglialonga F, Salardi S, et al. Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: a report of 10 cases. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2014;64(4):633–7.
31. Povey H, Vundru R, Junglee N, Jibani M. Renal recovery with eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome following prolonged dialysis. *Clin Nephrol.* 2014;82(5):326–31.
32. Coppo R, Peruzzi L, Amore A, Martino S, Vergano L, Lastauka I, et al. Dramatic effects of eculizumab in a child with diffuse proliferative lupus nephritis resistant to conventional therapy. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2015;30(1):167–72.
33. Soliris.net.U.S.prescribinginformation (http://soliris.net/sites/default/files/assets/soliris_pi.pdf). Accessed 1 Mar 2017.
34. Woodruff TM, Nandakumar KS, Tedesco F. Inhibiting the C5-C5a receptor axis. *Mol Immunol* 2011; 48: 1631–1642. doi:10.1016/j.molimm.2011.04.014 [PMID: 21549429].

Original Article

Ecuzumab in secondary atypical haemolytic uraemic syndrome

Teresa Caverio¹, Cristina Rabasco², Antía López³, Elena Román⁴, Ana Ávila⁵, Ángel Sevillano¹, Ana Huerta⁶, Jorge Rojas-Rivera⁷, Carolina Fuentes⁸, Miquel Blasco⁹, Ana Jarque¹⁰, Alba García³, Santiago Mendizabal⁴, Eva Gavela⁵, Manuel Macía¹⁰, Luis F. Quintana⁹, Ana María Romera¹¹, Josefa Borrego¹², Emi Arjona¹³, Mario Espinosa², José Portolés⁶, Carolina Gracia-Iguacel⁷, Emilio González-Parra⁷, Pedro Aljama², Enrique Morales¹, Mercedes Cao³, Santiago Rodríguez de Córdoba¹³ and Manuel Praga^{1,14}

¹Department of Nephrology, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain, ²Department of Nephrology, University Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain, ³Department of Nephrology, University Hospital A Coruña, A Coruña, Spain, ⁴Department of Pediatric Nephrology, University Hospital La Fe, Valencia, Spain, ⁵Department of Nephrology, University Hospital Dr Peset, Valencia, Spain, ⁶Department of Nephrology, University Hospital Puerta de Hierro, Madrid, Spain, ⁷Department of Nephrology, University Hospital Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, ⁸Department of Hematology, University Hospital La Fe, Valencia, Spain, ⁹Department of Nephrology, University Hospital Clínic, Barcelona, Spain, ¹⁰Department of Nephrology, University Hospital Nuestra Señora de La Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, Spain, ¹¹Department of Nephrology, University Hospital de Ciudad Real, Ciudad Real, Spain, ¹²Department of Nephrology, University Hospital de Jaén, Jaén, Spain, ¹³Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid and Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras, Madrid, Spain and ¹⁴Department of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain

Correspondence and offprint requests to: Manuel Praga; E-mail: mpragat@senefro.org

ABSTRACT

Background. Complement dysregulation occurs in thrombotic microangiopathies (TMAs) other than primary atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS). A few of these patients have been reported previously to be successfully treated with ecuzumab.

Methods. We identified 29 patients with so-called secondary aHUS who had received ecuzumab at 11 Spanish nephrology centres. Primary outcome was TMA resolution, defined by a normalization of platelet count ($>150 \times 10^9/L$) and haemoglobin, disappearance of all the markers of microangiopathic haemolytic anaemia (MAHA), and improvement of renal function, with a $\geq 25\%$ reduction of serum creatinine from the onset of ecuzumab administration.

Results. Twenty-nine patients with secondary aHUS (15 drug-induced, 8 associated with systemic diseases, 2 with postpartum, 2 with cancer-related, 1 associated with acute humoral rejection and 1 with intestinal lymphangiectasia) were included in this study. The reason to initiate ecuzumab treatment was worsening of renal function and persistence of TMA despite treatment of the TMA cause and plasmapheresis. All patients showed severe MAHA and renal function impairment (14 requiring dialysis) prior to ecuzumab treatment and 11 presented severe extrarenal manifestations. A rapid resolution of the TMA was observed in 20 patients (68%), 15 of them showing a $\geq 50\%$ serum creatinine reduction at the last follow-up. Comprehensive genetic and molecular studies in 22 patients identified complement pathogenic variants in only 2 patients. With these two

A retrospective study of pregnancy-associated atypical hemolytic uremic syndrome



Ana Huerta^{1,2}, Emilia Arjona^{3,4}, Jose Portoles^{1,2}, Paula Lopez-Sanchez¹, Cristina Rabasco^{2,5}, Mario Espinosa^{2,5}, Teresa Caverio^{2,6}, Miquel Blasco^{2,7}, Mercedes Cao⁸, Joaquin Manrique⁹, Virginia Cabello-Chavez¹⁰, Marta Suñer¹⁰, Manuel Heras¹¹, Xavier Fulladosa^{2,12}, Lara Belmar^{2,13}, Amparo Sempere¹⁴, Carmen Peralta¹⁵, Lorena Castillo¹⁵, Alvaro Arnau¹⁶, Manuel Praga^{2,6} and Santiago Rodriguez de Cordoba^{3,4}

¹Department of Nephrology, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain; ²RedinRen RD016/009/009, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain; ³Department of Cellular and Molecular Medicine, Center for Biological Research, Madrid, Spain; ⁴Center for Biomedical Network Research on Rare Diseases, Madrid, Spain; ⁵Department of Nephrology, Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba, Spain; ⁶Department of Nephrology, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain; ⁷Department of Nephrology, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁸Department of Nephrology, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña, Spain; ⁹Department of Nephrology, Clinica Universitaria de Navarra, Pamplona, Spain; ¹⁰Department of Nephrology, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Seville, Spain; ¹¹Department of Nephrology, Complejo Asistencial de Segovia, Segovia, Spain; ¹²Department of Nephrology, Hospital de Bellvitge, Barcelona, Spain; ¹³Department of Nephrology, Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Santander, Spain; ¹⁴Department of Hematology, Hospital Universitari Politècnic La Fe, Valencia, Spain; ¹⁵Department of Nephrology, Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII, Tarragona, Spain; and ¹⁶Department of Nephrology, Hospital Universitario Donostia, Donostia, Spain

Pregnancy-associated atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) refers to the thrombotic microangiopathy resulting from uncontrolled complement activation during pregnancy or the postpartum period. Pregnancy-associated aHUS is a devastating disease for which there is a limited clinical understanding and treatment experience. Here we report a retrospective study to analyze the clinical and prognostic data of 22 cases of pregnancy-associated aHUS from the Spanish aHUS Registry under different treatments. Sixteen patients presented during the first pregnancy and as many as nine patients required hemodialysis at diagnosis. Identification of inherited complement abnormalities explained nine of the 22 cases, with *CFH* mutations and *CFH* to *CFHR1* gene conversion events being the most prevalent genetic alterations associated with this disorder (66%). In thirteen of the cases, pregnancy complications were sufficient to trigger a thrombotic microangiopathy in the absence of genetic or acquired complement alterations. The postpartum period was the time with highest risk to develop the disease and the group shows an association of cesarean section with pregnancy-associated aHUS. Seventeen patients underwent plasma treatments with a positive renal response in only three cases. In contrast, ten patients received eculizumab with an excellent renal response in all, independent of carrying or

not inherited complement abnormalities. Although the cohort is relatively small, the data suggest that pregnancy-associated aHUS is not different from other types of aHUS and suggest the efficacy of eculizumab treatment over plasma therapies. This study may be useful to improve prognosis in this group of aHUS patients.

Kidney International (2018) 93, 450–459; <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2017.06.022>

KEYWORDS: cesarean section; complement; eculizumab; hemolytic uremic syndrome; postpartum

Copyright © 2017, International Society of Nephrology. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a thrombotic microangiopathy (TMA) associated with genetic or acquired abnormalities that result in uncontrolled complement activation, leading to kidney failure and other extrarenal complications.¹ The term pregnancy-associated aHUS (P-aHUS) has been coined to refer to the TMA that result from uncontrolled complement activation during pregnancy or the postpartum period. P-aHUS is a devastating systemic disease, with high maternal mortality and morbidity rates that extends beyond the initial presentation. It is a rare condition with an incidence of 1 in every 25,000 pregnancies and accounts for 20% of all aHUS cases in women.^{1–3}

During the last decade there has been enormous progress in the clinical and pathophysiological understanding of aHUS, which have greatly improved the management and treatment of the aHUS patients. The implementation of a complement inhibition therapy, based on the use of eculizumab, has changed the natural history of the disease,

Correspondence: Ana Huerta, Hospital Universitario Puerta del Hierro Majadahonda, Department of Nephrology, Majadahonda, Madrid 28222, Spain. E-mail: ana.huerta@me.com, or Santiago Rodriguez de Cordoba, Department of Cellular and Molecular Medicine and Center for Biological Research and Center for Biomedical Network Research on Rare Diseases, Spain. E-mail: srdecordoba@cib.csic.es

Received 17 February 2017; revised 23 June 2017; accepted 30 June 2017; published online 12 September 2017

Severe and malignant hypertension are common in primary atypical hemolytic uremic syndrome



Teresa Caveró¹, Emilia Arjona², Karina Soto³, Fernando Caravaca-Fontán¹, Cristina Rabasco⁴, Luis Bravo⁵, Francisco de la Cerda⁶, Nadia Martín⁷, Miquel Blasco⁸, Ana Ávila⁹, Ana Huerta¹⁰, Virginia Cabello¹¹, Ana Jarque¹², Concepción Alcázar¹³, Xavier Fulladosa¹⁴, Javier Carbayo¹⁵, Sara Anaya¹⁶, Carmen Cobelo¹⁷, Natalia Ramos¹⁸, Elena Iglesias¹⁹, José Baltar²⁰, Rocío Martínez-Gallardo²¹, Lourdes Pérez²², Enrique Morales¹, Roberto González¹, Manuel Macía¹², Juliana Draibe¹⁴, Luis Pallardó⁹, Luis F. Quintana⁸, Mario Espinosa⁴, Xoana Barros⁷, Fernando Pereira³, Mercedes Cao⁵, Juan Antonio Moreno²³, Santiago Rodríguez de Córdoba² and Manuel Praga^{1,24}; on behalf of the Spanish Group for the Study of Glomerular Diseases (GLOSEN)

¹Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, Department of Nephrology, Madrid, Spain; ²Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras, Madrid, Spain; ³Department of Nephrology, Hospital Fernando Fonseca, Lisbon, Portugal; ⁴Department of Nephrology, University Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain; ⁵Department of Nephrology, University Hospital A Coruña, A Coruña, Spain; ⁶Department of Pediatric Nephrology, University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, Spain; ⁷Department of Nephrology, University Hospital Doctor Josep Truet, Girona, Spain; ⁸Department of Nephrology, University Hospital Clinic, Barcelona, Spain; ⁹Department of Nephrology, University Hospital Dr. Peset, Valencia, Spain; ¹⁰Department of Nephrology, University Hospital Puerta de Hierro, Madrid, Spain; ¹¹Department of Nephrology, University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, Spain; ¹²Department of Nephrology, University Hospital Nuestra Señora de La Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, Spain; ¹³Department of Nephrology, University Hospital Reina Sofía, Murcia, Spain; ¹⁴Department of Nephrology, University Hospital de Bellvitge, Barcelona, Spain; ¹⁵Department of Nephrology, University Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain; ¹⁶Department of Nephrology, University Hospital de Ciudad Real, Ciudad Real, Spain; ¹⁷Department of Nephrology, University Hospital Lucus Augusti, Lugo, Spain; ¹⁸Department of Nephrology, University Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ¹⁹Department of Nephrology, University Hospital de Orense, Orense, Spain; ²⁰Department of Nephrology, University Hospital San Agustín, Avilés, Spain; ²¹Department of Nephrology, University Hospital Infanta Cristina, Badajoz, Spain; ²²Department of Nephrology, University Hospital de Canarias, Santa Cruz de Tenerife, Spain; ²³Renal, Vascular and Diabetes Research Laboratory, Fundación Instituto de Investigaciones Sanitarias-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain; and ²⁴Department of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain

Malignant hypertension is listed among the causes of secondary thrombotic microangiopathy, but pathogenic mutations in complement genes have been reported in patients with hypertension-induced thrombotic microangiopathy. Here we investigated the frequency and severity of hypertension in 55 patients with primary atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). A genetic analysis was performed in all patients, and funduscopic examination was performed in all the patients with Grades 2 and 3 hypertension. A cohort of 110 patients with malignant hypertension caused by diseases other than aHUS served as control. Thirty-six patients with aHUS presented Grade 2 or Grade 3 hypertension and funduscopic examination showed malignant hypertension in 19. Genetic abnormalities in complement were found in 19 patients (37% among patients with malignant hypertension). Plasmapheresis was performed in 46 patients and 26 received eculizumab. Renal and hematological responses were significantly lower after plasmapheresis (24%) than after eculizumab (81%). Renal

survival was significantly higher in patients treated with eculizumab (85% at one, three and five years) compared to patients who did not receive this treatment (54%, 46% and 41%), respectively. Response to eculizumab was independent of hypertension severity and the presence of complement genetic abnormalities. Among patients with malignant hypertension caused by other diseases the prevalence of thrombotic microangiopathy was very low (5%). Thus, severe and malignant hypertension are common among patients with aHUS and eculizumab treatment leads to a higher renal survival when compared to plasmapheresis. However, thrombotic microangiopathy is uncommon among patients presenting with malignant hypertension caused by diseases other than aHUS.

Kidney International (2019) 96, 995–1004; <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.05.014>

KEYWORDS: atypical hemolytic uremic syndrome; complement; eculizumab; malignant hypertension

Copyright © 2019, International Society of Nephrology. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Correspondence: Manuel Praga, Department of Nephrology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avda. De Córdoba s/n, 28041, Madrid, Spain. E-mail: mpragat@se-nefro.org

Received 16 February 2019; revised 12 April 2019; accepted 2 May 2019; published online 31 May 2019

Kidney International (2019) 96, 995–1004

995

Thrombotic microangiopathies (TMAs) are a group of devastating diseases characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and organ dysfunction, mainly affecting the central nervous system and the

Factor H Competitor Generated by Gene Conversion Events Associates with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome

Elena Goicoechea de Jorge,¹ Agustín Tortajada,¹ Sheila Pinto García,² Sara Gastoldi,³ Héctor Martín Merinero,² Jesús García-Fernández,² Emilia Arjona,² Mercedes Cao,⁴ Giuseppe Remuzzi,^{3,5} Marina Noris,³ and Santiago Rodríguez de Córdoba²

¹Department of Immunology, Complutense University and Research Institute Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain; ²Centro de Investigaciones Biológicas and Ciber de Enfermedades Raras, Madrid, Spain; ³IRCCS, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri," Clinical Research Center for Rare Diseases "Aldo e Cele Daccò," Ranica, Bergamo, Italy; ⁴Servicio de Nefrología, Hospital Universitario A Coruña, A Coruña, Spain; and ⁵Department of Biomedical and Clinical Sciences, University of Milan, Milan, Italy

ABSTRACT

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), a rare form of thrombotic microangiopathy caused by complement pathogenic variants, mainly affects the kidney microvasculature. A retrospective genetic analysis in our aHUS cohort ($n=513$) using multiple ligation probe amplification uncovered nine unrelated patients carrying a genetic abnormality in the complement factor H related 1 gene (*CFHR1*) that originates by recurrent gene conversion events between the *CFH* and *CFHR1* genes. The novel *CFHR1* mutants encode an FHR-1 protein with two amino acid substitutions, L290S and A296V, converting the FHR-1 C terminus into that of factor H (FH). Next-generation massive-parallel DNA sequencing (NGS) analysis did not detect these genetic abnormalities. In addition to the *CFHR1* mutant, six patients carried the previously uncharacterized *CFH-411T* variant. In functional analyses, the mutant FHR-1 protein strongly competed the binding of FH to cell surfaces, impairing complement regulation, whereas the *CFH-411T* polymorphism lacked functional consequences. Carriers of the *CFHR1* mutation presented with severe aHUS during adulthood; 57% of affected women in this cohort presented during the postpartum period. Analyses in patients and unaffected carriers showed that FH plasma levels determined by the nonmutated chromosome modulate disease penetrance. Crucially, in the activated endothelial (HMEC-1) cell assay, reduced FH plasma levels produced by the nonmutated chromosome correlated inversely with impairment of complement regulation, measured as C5b-9 deposition. Our data advance understanding of the genetic complexities underlying aHUS, illustrate the importance of performing functional analysis, and support the use of complementary assays to disclose genetic abnormalities not revealed by current NGS analysis.

J Am Soc Nephrol 29: 240–249, 2018. doi: <https://doi.org/10.1681/ASN.2017050518>

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is an ultra-rare disease characterized by AKI, thrombocytopenia, and microangiopathic hemolytic anemia, which results from an impaired protection of host endothelial cells from complement damage.¹ Criteria have been established to facilitate the diagnosis of aHUS.² Fifty to 70% of patients with aHUS have an underlying inherited and/or acquired complement abnormality.^{3–11} Missense mutations and complex genomic rearrangements implicating *CFH* are prototypical of aHUS and the most prevalent genetic alterations, present in

>25% of the patients with aHUS, in all series.³ Most aHUS-associated *CFH* mutations disrupt the C terminus of the protein, a region that is

Received May 14, 2017. Accepted July 19, 2017.

Published online ahead of print. Publication date available at www.jasn.org.

Correspondence: Prof. Santiago Rodríguez de Córdoba, Department of Cellular and Molecular Medicine, Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, Spain. Email: srdcordoba@cib.csic.es

Copyright © 2018 by the American Society of Nephrology

Complement Activation and Thrombotic Microangiopathies

Marta Palomo,^{1,2,3} Miquel Blasco,^{4,5} Patricia Molina,² Miquel Lozano,⁶ Manuel Praga,^{7,8} Sergi Torrama de Moix,² Julia Martínez-Sánchez,^{1,2,3} Joan Cid,⁶ Gines Escolar,² Enric Carreras,^{1,3} Cristina Paules,⁹ Fatima Crispi,⁹ Luis F. Quintana,^{4,5} Esteban Poch,^{4,5} Lida Rodas,⁴ Emma Goma,⁴ Johann Morelle,¹⁰ Mario Espinosa,¹¹ Enrique Morales,⁷ Ana Avila,¹² Virginia Cabello,¹³ Gema Ariceta,¹⁴ Sara Chocron,¹⁴ Joaquin Manrique,¹⁵ Xoana Barros,¹⁶ Nadia Martin,¹⁶ Ana Huerta,¹⁷ Gloria M. Fraga-Rodríguez,¹⁸ Mercedes Cao,¹⁹ Marisa Martin,²⁰ Ana María Romera,²¹ Francesc Moreso,²² Anna Manonelles,²³ Eduard Gratacos,⁹ Arturo Pereira,²⁴ Josep M. Campistol,⁴ and Maribel Diaz-Ricart^{2,3}

Abstract

Background and objectives Atypical hemolytic uremic syndrome is a form of thrombotic microangiopathy caused by dysregulation of the alternative complement pathway. There is evidence showing complement activation in other thrombotic microangiopathies. The aim of this study was to evaluate complement activation in different thrombotic microangiopathies and to monitor treatment response.

Design, setting, participants, & measurements Complement activation was assessed by exposing endothelial cells to sera or activated-patient plasma—citrate plasma mixed with a control sera pool (1:1)—to analyze C5b-9 deposits by immunofluorescence. Patients with atypical hemolytic uremic syndrome ($n=34$) at different stages of the disease, HELLP syndrome (a pregnancy complication characterized by hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) or severe preeclampsia ($n=10$), and malignant hypertension ($n=5$) were included.

Results Acute phase atypical hemolytic uremic syndrome-activated plasma induced an increased C5b-9 deposition on endothelial cells. Standard and lower doses of eculizumab inhibited C5b-9 deposition in all patients with atypical hemolytic uremic syndrome, except in two who showed partial remission and clinical relapse. Significant fibrin formation was observed together with C5b-9 deposition. Results obtained using activated-plasma samples were more marked and reproducible than those obtained with sera. C5b-9 deposition was also increased with samples from patients with HELLP (all cases) and preeclampsia (90%) at disease onset. This increase was sustained in those with HELLP after 40 days, and levels normalized in patients with both HELLP and preeclampsia after 6–9 months. Complement activation in those with malignant hypertension was at control levels.

Conclusions The proposed methodology identifies complement overactivation in patients with atypical hemolytic uremic syndrome at acute phase and in other diseases such as HELLP syndrome and preeclampsia. Moreover, it is sensitive enough to individually assess the efficiency of the C5 inhibition treatment.

CJASN 14: ●●-●●●, 2019. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.05830519>

Introduction

Thrombotic microangiopathies (TMAs) include a group of disorders that share clinical features, such as a triad of microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and organ damage (1,2). Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a TMA primarily caused by a lack of regulation of the alternative complement pathway. New evidence suggests that a number of TMAs other than aHUS could also be associated with complement overactivation (3,4).

In both inherited or acquired aHUS there is an assembly of the membrane-attack complex leading to endothelial cell inflammation, activation, and injury (5,6). The introduction of eculizumab, an mAb which blocks terminal complement activation, significantly

improved the natural progression of the disease (7,8). Lifelong treatment with this drug is often considered in inherited aHUS. The ability to monitor treatment efficiency and patient recovery, with appropriate biologic markers, could help in decision making regarding treatment continuation.

aHUS occurs as dysregulation of the alternative complement pathway (9,10) and the presence of complement-amplifying conditions, resulting in endothelial damage (11,12). Some complement-amplifying conditions are sufficient to lead to TMAs (5). This phenomenon could play a role in pregnancy-related complications such as preeclampsia and HELLP (a pregnancy complication characterized by hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count)

Due to the number of contributing authors, the affiliations are listed at the end of this article.

Correspondence:

Dr. Marta Palomo, Josep Carreras Leukaemia Research Institute, Hospital Clinic/University of Barcelona Campus, Carrer de Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. Email: mpalomo@carrerasresearch.org

Conclusiones

11 CONCLUSIONES

1. La incidencia de SHUa en nuestra área sanitaria así como su prevalencia fue superior a las descritas. De generalizarse estos datos, la frecuencia de la enfermedad estaría infraestimada en la mayor parte de las series publicadas. Las diferencias entre población pediátrica/adolescente y adulta se explican por la distinta estructura demográfica de las poblaciones a estudiar.
2. Los pacientes adultos presentan mayor severidad hematológica y renal, con mayor requerimiento de diálisis y mayor frecuencia de hipertensión arterial. Las mujeres presentaron mayor severidad en la afectación renal y los varones mayor frecuencia de hipertensión arterial.
3. En más de la mitad de nuestros pacientes encontramos variantes en los genes codificadores de la vía alternativa del complemento, y en casi todos haplotipos de riesgo en CFH y/o MCP. La frecuencia en el hallazgo de variantes se incrementó al hacer el estudio con panel amplio, lo que sugiere la importancia de estudiar todos los genes candidatos posibles. La identificación de 11 variantes no descritas previamente enfatiza la variabilidad genética de esta enfermedad y la necesidad de su publicación para el conocimiento general. Las variantes en CFD, C6, C7 descritas por primera vez en uno de nuestros pacientes, e indica que los mecanismos patogénicos implicados en ésta enfermedad pueden ser más amplios que lo que se ha reportado hasta ahora. En la mayor parte de los pacientes en los que no se identificaron variantes genéticas se encontraron haplotipos de riesgo en CFH y/o MCP, lo que sugiere que en condiciones de activación incontrolada de la vía alternativa del complemento, la presencia de éstos haplotipos puede condicionar por sí mismo, o con genes no conocidos, el desarrollo de la enfermedad. No es aconsejable el estudio de los valores plasmáticos de los factores para hacer el cribado del estudio genético.
4. Practicamente todos los pacientes presentaron normalización hematológica al cabo del año, con menor precocidad en los pacientes adultos y en los portadores de CFH y en los pacientes sometidos a plasmaterapia. La normalización hematológica fue más precoz que la recuperación renal.
5. La mitad de los pacientes recuperaron íntegramente la función renal y el resto entraron definitivamente en diálisis. La recuperación completa de función renal se produjo con más frecuencia en los pacientes pediátricos/adolescentes. Ninguno de los pacientes con

CONCLUSIONES

variantes en CFH o CFHR presentó recuperación de la función renal. Nuestros resultados sugieren que eculizumab modifica el pronóstico renal de los pacientes con SHUa, puesto que todos los tratados pudieron abandonar la diálisis, y todos los que no tenían insuficiencia renal previa recuperaron íntegramente la función renal. La magnitud del efecto fue muy importante puesto que solo se necesita tratar a 2 pacientes para producir una recuperación completa de la función renal.

6. La quinta parte de los pacientes experimentaron episodios de recidiva en los riñones nativos. Un resultado inesperado fue la aparición de recidivas tardías o muy tardías, lo que plantea la necesidad de una monitorización estricta, y un cuidado extremado para interrumpir el tratamiento con eculizumab. Los episodios de recidiva fueron más frecuentes en los pacientes pediátricos/adolescentes y en los portadores de variantes en MCP, en congruencia con lo publicado por otros autores
7. Nuestros resultados confirman la necesidad de hacer estudios genéticos previos al trasplante y el tratamiento profiláctico con eculizumab, excepto en los pacientes con variantes en MCP, para evitar la recidiva, que fue la principal causa de pérdida de los injertos. En nuestra cohorte el trasplante renal solo tuvo éxito en la tercera parte de los pacientes no tratados con eculizumab, frente a la totalidad de los que lo recibieron o presentaba variantes en MCP. El motivo de la pérdida de los injertos fue la recidiva, fundamentalmente precoz.
8. La mortalidad fue del 14%. Solo en dos casos, el que falleció a la semana por sepsis, y el que falleció a los 13 años por isquemia mesentérica podría relacionarse directamente con la enfermedad. Esta baja mortalidad específica puede ser atribuida a la mejoría de los cuidados, al inicio precoz del tratamiento con diálisis y plasmaterapia en la era preeculizumab, y al tratamiento con este fármaco desde el 2011. Creemos que el agregado pérdida de función renal/éxitus no es adecuado, ya que no clarifica la magnitud de cada evento por separado.
9. Al final del seguimiento, merced a la evolución de la enfermedad, los cuidados practicados y la actividad trasplantadora 64% de los pacientes presentan función renal satisfactoria, la mitad por recuperación íntegra de función renal en riñones nativos y el 19% con un injerto funcionante. 25% de los pacientes continúan en diálisis, aunque el uso de eculizumab profiláctico, permitirá que la mayor parte de ellos reciban un trasplante renal con éxito en el futuro.

Bibliografía

12 BIBLIOGRAFÍA

1. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 2009;361(17):1676-87.
2. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:60.
3. George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med.* 2014;371(7):654-66.
4. Comunicación de la comisión del Parlamento europeo al Consejo aCeysyaCdIR. Las enfermedades raras :un reto para Europa. 2008.
5. Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS, Christen E, Kaplan BS, Cnaan A, et al. Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome: causes and short-term course. *Am J Kidney Dis.* 2004;43(6):976-82.
6. Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, 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.
7. Sheerin NS, Kavanagh D, Goodship TH, Johnson S. A national specialized service in England for atypical haemolytic uraemic syndrome-the first year's experience. *QJM.* 2016;109(1):27-33.
8. Bayer G, von Tokarski F, Thoreau B, Bauvois A, Barbet C, Cloarec S, et al. Etiology and Outcomes of Thrombotic Microangiopathies. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14(4):557-66.
9. Zimmerhackl LB, Besbas N, Jungraithmayr T, van de Kar N, Karch H, Karpman D, et al. Epidemiology, clinical presentation, and pathophysiology of atypical and recurrent hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost.* 2006;32(2):113-20.
10. Akesson A, Blom AM, Klintman J, Zetterberg E. Indications of underdiagnosis of atypical haemolytic uraemic syndrome in a cohort referred to the Coagulation Unit in Malmo, Sweden, for analysis of ADAMTS13 2007-2012. *Nephrology (Carlton).* 2017;22(7):555-61.
11. Krishnappa V, Gupta M, Elrifai M, Moftakhar B, Ensley MJ, Vachharajani TJ, et al. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Meta-Analysis of Case Reports Confirms the Prevalence of Genetic Mutations and the Shift of Treatment Regimens. *Ther Apher Dial.* 2018;22(2):178-88.
12. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, 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.
13. Schaefer F, Ardissino G, Ariceta G, Fakhouri F, Scully M, Isbel N, et al. Clinical and genetic predictors of atypical hemolytic uremic syndrome phenotype and outcome. *Kidney Int.* 2018.
14. Bernabeu-Herrero ME, Jimenez-Alcazar M, Anter J, Pinto S, Sanchez Chinchilla D, Garrido S, et al. Complement factor H, FHR-3 and FHR-1 variants associate in an extended haplotype conferring increased risk of atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol.* 2015;67(2 Pt B):276-86.
15. Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, Sallee M, Caillard S, Couzi L, et al. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(5):859-67.
16. George JN, Nester CM, McIntosh JJ. Syndromes of thrombotic microangiopathy associated with pregnancy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2015;2015:644-8.

17. 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.* 2017.
18. Bruel A, Kavanagh D, Noris M, Delmas Y, Wong EKS, Bresin E, et al. Hemolytic Uremic Syndrome in Pregnancy and Postpartum. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017;12(8):1237-47.
19. Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(8):2392-400.
20. Tsai HM. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: Beyond Hemolysis and Uremia. *Am J Med.* 2018.
21. van den Heuvel L, Riesbeck K, El Tahir O, Gracchi V, Kremlitzka M, Morre SA, et al. Genetic predisposition to infection in a case of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Hum Genet.* 2018;63(1):93-6.
22. Fidan K, Goknar N, Gulhan B, Melek E, Yildirim ZY, Baskin E, et al. Extra-Renal manifestations of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* 2018.
23. Ardissino G, Tel F, Testa S, Marzano AV, Lazzari R, Salardi S, et al. Skin involvement in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Kidney Dis.* 2014;63(4):652-5.
24. Walle JV, Delmas Y, Ardissino G, Wang J, Kincaid JF, Haller H. Improved renal recovery in patients with atypical hemolytic uremic syndrome following rapid initiation of eculizumab treatment. *J Nephrol.* 2017;30(1):127-34.
25. Fujisawa M, Kato H, Yoshida Y, Usui T, Takata M, Fujimoto M, et al. Clinical characteristics and genetic backgrounds of Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin Exp Nephrol.* 2018.
26. Ardissino G, Possenti I, Tel F, Testa S, Paglialonga F. Time to change the definition of hemolytic uremic syndrome. *Eur J Intern Med.* 2014;25(2):e29.
27. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, et al. An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia.* 2015;35(5):421-47.
28. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* 2016;31(1):15-39.
29. Fakhouri F, Zuber J, Fremeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet.* 2017;390(10095):681-96.
30. Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-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):539-51.
31. Akesson A, Zetterberg E, Klintman J. At the Cross Section of Thrombotic Microangiopathy and Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review of Differential Diagnostics and a Problematization of Nomenclature. *Ther Apher Dial.* 2017;21(4):304-19.
32. Osa Pérez J ACD, Iglesias Seoane J. Desarrollo de una herramienta para dar soporte al diagnóstico de Síndrome hemolítico urémico. Trabajo Fin de Grado en Ingeniería Informática Universidad de A Coruña. 2017:1-138.
33. E M. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proc NY Pathol Soc.* 1924(24):21-4.
34. Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 1998;339(22):1578-84.
35. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Lammle B. Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 1998;91(8):2839-46.
36. Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 1998;339(22):1585-94.

37. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. 2001;413(6855):488-94.
38. Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R. [Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia]. *Schweiz Med Wochenschr*. 1955;85(38-39):905-9.
39. Javett SN, Senior B. Syndrome of hemolysis, thrombopenia and nephropathy in infancy. *Pediatrics*. 1962;29:209-23.
40. Riley LW, Remis RS, Helgeson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*. 1983;308(12):681-5.
41. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet*. 1983;1(8325):619-20.
42. European Centre for Disease prevention and control. Annual Epidemiological report.2014. Food and Waterbone diseases and zoonoses. Shiga toxin/Verocytotoxin-producing *Escherichia Coli* infection.
43. Buchholz U, Bernard H, Werber D, Bohmer MM, Remschmidt C, Wilking H, et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med*. 2011;365(19):1763-70.
44. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, et al. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. *J Infect Dis*. 2005;192(8):1422-9.
45. Rivas M, Chinen I, Miliwebsky E, Masana M. Risk Factors for Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*-Associated Human Diseases. *Microbiol Spectr*. 2014;2(5).
46. Mellor GE, Fegan N, Gobius KS, Smith HV, Jennison AV, D'Astek BA, et al. Geographically distinct *Escherichia coli* O157 isolates differ by lineage, Shiga toxin genotype, and total shiga toxin production. *J Clin Microbiol*. 2015;53(2):579-86.
47. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9464):1073-86.
48. Jacewicz MS, Mobassaleh M, Gross SK, Balasubramanian KA, Daniel PF, Raghavan S, et al. Pathogenesis of *Shigella* diarrhea: XVII. A mammalian cell membrane glycolipid, Gb3, is required but not sufficient to confer sensitivity to Shiga toxin. *J Infect Dis*. 1994;169(3):538-46.
49. Huang J, Motto DG, Bundle DR, Sadler JE. Shiga toxin B subunits induce VWF secretion by human endothelial cells and thrombotic microangiopathy in ADAMTS13-deficient mice. *Blood*. 2010;116(18):3653-9.
50. Klein PJ, Bulla M, Newman RA, Muller P, Uhlenbruck G, Schaefer HE, et al. Thomsen-Friedenreich antigen in haemolytic-uraemic syndrome. *Lancet*. 1977;2(8046):1024-5.
51. Spinale JM, Ruebner RL, Kaplan BS, Copelovitch L. Update on *Streptococcus pneumoniae* associated hemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25(2):203-8.
52. Golubovic E, Miljkovic P, Zivic S, Jovancic D, Kostic G. Hemolytic uremic syndrome associated with novel influenza A H1N1 infection. *Pediatr Nephrol*. 2011;26(1):149-50.
53. Meinel C, Sparta G, Dahse HM, Horhold F, Konig R, Westermann M, et al. *Streptococcus pneumoniae* From Patients With Hemolytic Uremic Syndrome Binds Human Plasminogen via the Surface Protein PspC and Uses Plasmin to Damage Human Endothelial Cells. *J Infect Dis*. 2018;217(3):358-70.
54. Russo P, Doyon J, Sonsino E, Ogier H, Saudubray JM. A congenital anomaly of vitamin B12 metabolism: a study of three cases. *Hum Pathol*. 1992;23(5):504-12.
55. Geraghty MT, Perlman EJ, Martin LS, Hayflick SJ, Casella JF, Rosenblatt DS, et al. Cobalamin C defect associated with hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr*. 1992;120(6):934-7.
56. Cornec-Le Gall E, Delmas Y, De Parscau L, Doucet L, Ogier H, Benoist JF, et al. Adult-onset eculizumab-resistant hemolytic uremic syndrome associated with cobalamin C deficiency. *Am J Kidney Dis*. 2014;63(1):119-23.

57. Petropoulos TE, Ramirez ME, Granton J, Licht C, John R, Moayed Y, et al. Renal thrombotic microangiopathy and pulmonary arterial hypertension in a patient with late-onset cobalamin C deficiency. *Clin Kidney J.* 2018;11(3):310-4.
58. Yousaf F, Spinowitz B, Charytan C, Galler M. Pernicious Anemia Associated Cobalamin Deficiency and Thrombotic Microangiopathy: Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Med.* 2017;2017:9410727.
59. Grange S, Bekri S, Artaud-Macari E, Francois A, Girault C, Poitou AL, et al. Adult-onset renal thrombotic microangiopathy and pulmonary arterial hypertension in cobalamin C deficiency. *Lancet.* 2015;386(9997):1011-2.
60. Tran PN, Tran MH. Cobalamin deficiency presenting with thrombotic microangiopathy (TMA) features: A systematic review. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(1):102-6.
61. Navarro D, Azevedo A, Sequeira S, Ferreira AC, Carvalho F, Fidalgo T, et al. Atypical adult-onset methylmalonic acidemia and homocystinuria presenting as hemolytic uremic syndrome. *CEN Case Rep.* 2018;7(1):73-6.
62. Lemoine M, Grange S, Guerrot D. [Kidney disease in cobalamin C deficiency]. *Nephrol Ther.* 2019;15(4):201-14.
63. Ozaltin F, Li B, Rauhauser A, An SW, Soylemezoglu O, Gonul, II, et al. DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(3):377-84.
64. Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M, et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet.* 2013;45(5):531-6.
65. Westland R, Bodria M, Carrea A, Lata S, Scolari F, Fremeaux-Bacchi V, et al. Phenotypic expansion of DGKE-associated diseases. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(7):1408-14.
66. Mele C, Lemaire M, Iatropoulos P, Piras R, Bresin E, Bettoni S, 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.
67. Bruneau S, Neel M, Roumenina LT, Frimat M, Laurent L, Fremeaux-Bacchi V, et al. Loss of DGKE epsilon induces endothelial cell activation and death independently of complement activation. *Blood.* 2015;125(6):1038-46.
68. Gottschall JL, Elliot W, Lianos E, McFarland JG, Wolfmeyer K, Aster RH. Quinine-induced immune thrombocytopenia associated with hemolytic uremic syndrome: a new clinical entity. *Blood.* 1991;77(2):306-10.
69. Huynh M, Chee K, Lau DH. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with quetiapine. *Ann Pharmacother.* 2005;39(7-8):1346-8.
70. Saif MW, McGee PJ. Hemolytic-uremic syndrome associated with gemcitabine: a case report and review of literature. *JOP.* 2005;6(4):369-74.
71. Saif MW, Xyla V, Makrilia N, Bliziotis I, Syrigos K. Thrombotic microangiopathy associated with gemcitabine: rare but real. *Expert Opin Drug Saf.* 2009;8(3):257-60.
72. Daviet F, Rouby F, Poullin P, Moussi-Frances J, Sallee M, Burtey S, et al. Thrombotic microangiopathy associated with gemcitabine use: Presentation and outcome in a national French retrospective cohort. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(2):403-12.
73. Abraham KA, Little MA, Dorman AM, Walshe JJ. Hemolytic-uremic syndrome in association with both cyclosporine and tacrolimus. *Transpl Int.* 2000;13(6):443-7.
74. Neto P, Lopes K, Macario F, Alves R, Mota A, Campos M. De novo tacrolimus-associated hemolytic uremic syndrome after renal transplantation - case report. *Nefrologia.* 2013;33(1):152-4.
75. Vakiti A, Singh D, Pilla R, Alhaj-Moustafa M, Fitzpatrick KW. Bevacizumab-induced atypical hemolytic uremic syndrome and treatment with eculizumab. *J Oncol Pharm Pract.* 2018;1078155218774895.
76. Sartelet H, Toupance O, Lorenzato M, Fadel F, Noel LH, Lagonotte E, et al. Sirolimus-induced thrombotic microangiopathy is associated with decreased expression of vascular endothelial growth factor in kidneys. *Am J Transplant.* 2005;5(10):2441-7.

77. Eremina V, Jefferson JA, Kowalewska J, Hochster H, Haas M, Weisstuch J, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*. 2008;358(11):1129-36.
78. van den Born BJ, Honnebier UP, Koopmans RP, van Montfrans GA. Microangiopathic hemolysis and renal failure in malignant hypertension. *Hypertension*. 2005;45(2):246-51.
79. Timmermans S, Abdul-Hamid MA, Vanderlocht J, Damoiseaux J, Reutelingsperger CP, van Paassen P, et al. Patients with hypertension-associated thrombotic microangiopathy may present with complement abnormalities. *Kidney Int*. 2017;91(6):1420-5.
80. Cavero T, Arjona E, Soto K, Caravaca-Fontan F, Rabasco C, Bravo L, et al. Severe and malignant hypertension are common in primary atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*. 2019;96(4):995-1004.
81. Kawasaki Y, Suzuki J, Nozawa R, Suzuki S, Suzuki H. A 12-year-old girl with hemolytic uremic syndrome as initial symptom of systemic lupus erythematosus and a literature review. *Am J Nephrol*. 2002;22(5-6):576-80.
82. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, Falk RJ, Jennette JC. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol*. 2007;170(1):52-64.
83. Blanc C, Roumenina LT, Ashraf Y, Hyvarinen S, Sethi SK, Ranchin B, et al. Overall neutralization of complement factor H by autoantibodies in the acute phase of the autoimmune form of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Immunol*. 2012;189(7):3528-37.
84. Cavero T, Rabasco C, Lopez A, Roman E, Avila A, Sevillano A, et al. Eculizumab in secondary atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(3):466-74.
85. Bally S, Fourcade J, Fremeaux-Bacchi V. Haemolytic uraemic syndrome associated with non shiga toxin-producing *Escherichia coli* bacteraemia: a case report. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):157.
86. Lechner K, Obermeier HL. Cancer-related microangiopathic hemolytic anemia: clinical and laboratory features in 168 reported cases. *Medicine (Baltimore)*. 2012;91(4):195-205.
87. Laskin BL, Goebel J, Davies SM, Jodele S. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood*. 2011;118(6):1452-62.
88. Jodele S, Davies SM, Lane A, Khoury J, Dandoy C, Goebel J, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: a study in children and young adults. *Blood*. 2014;124(4):645-53.
89. Le Clech A, Simon-Tillaux N, Provot F, Delmas Y, Vieira-Martins P, Limou S, et al. Atypical and secondary hemolytic uremic syndromes have a distinct presentation and no common genetic risk factors. *Kidney Int*. 2019;95(6):1443-52.
90. Kaplan BS, Chesney RW, Drummond KN. Hemolytic uremic syndrome in families. *N Engl J Med*. 1975;292(21):1090-3.
91. Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, Pirson Y, Nicholls A, Ward RM, et al. Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*. 1998;53(4):836-44.
92. Rodriguez de Cordoba S, Hidalgo MS, Pinto S, Tortajada A. Genetics of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(4):422-30.
93. Bresin E, Rurali E, Caprioli J, Sanchez-Corral P, Fremeaux-Bacchi V, Rodriguez de Cordoba S, et al. Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(3):475-86.
94. Esparza-Gordillo J, Goicoechea de Jorge E, Buil A, Carreras Berges L, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P, et al. Predisposition to atypical hemolytic uremic syndrome involves the concurrence of different susceptibility alleles in the regulators of complement activation gene cluster in 1q32. *Hum Mol Genet*. 2005;14(5):703-12.
95. Caprioli J, Castelletti F, Bucchioni S, Bettinaglio P, Bresin E, Pianetti G, 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 Genet.* 2003;12(24):3385-95.
96. Bienaime F, Dragon-Durey MA, Regnier CH, Nilsson SC, Kwan WH, Blouin J, et al. Mutations in components of complement influence the outcome of Factor I-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* 2010;77(4):339-49.
97. Rodriguez de Cordoba S. aHUS: a disorder with many risk factors. *Blood.* 2010;115(2):158-60.
98. Orth D, Khan AB, Naim A, Grif K, Brockmeyer J, Karch H, et al. Shiga toxin activates complement and binds factor H: evidence for an active role of complement in hemolytic uremic syndrome. *J Immunol.* 2009;182(10):6394-400.
99. Poolpol K, Orth-Holler D, Speth C, Zipfel PF, Skerka C, de Cordoba SR, et al. Interaction of Shiga toxin 2 with complement regulators of the factor H protein family. *Mol Immunol.* 2014;58(1):77-84.
100. Ferraris JR FV, Acquier AB, Sorroche PB, Saez MS, Ginaca A, Mendez CF. Activation of the alternative pathway of complement during the acute phase of typical haemolytic uraemic syndrome. *Clinical and Experimental Immunology.* 2015;181:118-25.
101. Exeni RA, Fernandez-Brando RJ, Santiago AP, Fiorentino GA, Exeni AM, Ramos MV, et al. Pathogenic role of inflammatory response during Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome (HUS). *Pediatr Nephrol.* 2018.
102. Caillaud C, Zalozyc A, Licht C, Pichault V, Fremeaux-Bacchi V, Fischbach M. CFH gene mutation in a case of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome (STEC-HUS). *Pediatr Nephrol.* 2016;31(1):157-61.
103. Fremeaux-Bacchi V, Sellier-Leclerc AL, Vieira-Martins P, Limou S, Kwon T, Lahoche A, et al. Complement Gene Variants and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: Retrospective Genetic and Clinical Study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14(3):364-77.
104. Frimat M, Tabarin F, Dimitrov JD, Poitou C, Halbwegs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, et al. Complement activation by heme as a secondary hit for atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2013;122(2):282-92.
105. Merle NS, Boudhabhay I, Leon J, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement activation during intravascular hemolysis: Implication for sickle cell disease and hemolytic transfusion reactions. *Transfus Clin Biol.* 2019;26(2):116-24.
106. Sanchez Chinchilla D, Pinto S, Hoppe B, Adragna M, Lopez L, Justa Roldan ML, et al. Complement mutations in diacylglycerol kinase-epsilon-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(9):1611-9.
107. Bu F, Maga T, Meyer NC, Wang K, Thomas CP, Nester CM, et al. Comprehensive genetic analysis of complement and coagulation genes in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(1):55-64.
108. Cao M, Ferreira T, Leite BN, Pita F, Bolanos L, Valdes F, et al. Two cases of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA): a possible relationship. *CEN Case Rep.* 2017;6(1):91-7.
109. Ricklin D, Lambris JD. New milestones ahead in complement-targeted therapy. *Semin Immunol.* 2016;28(3):208-22.
110. Cortes C, Ohtola JA, Saggi G, Ferreira VP. Local release of properdin in the cellular microenvironment: role in pattern recognition and amplification of the alternative pathway of complement. *Front Immunol.* 2012;3:412.
111. Ueda Y, Miwa T, Gullipalli D, Sato S, Ito D, Kim H, et al. Blocking Properdin Prevents Complement-Mediated Hemolytic Uremic Syndrome and Systemic Thrombophilia. *J Am Soc Nephrol.* 2018.
112. Podack ER, Muller-Eberhard HJ. SC5b-9 complex of complement: formation of the dimeric membrane attack complex by removal of S-protein. *J Immunol.* 1980;124(4):1779-83.

113. Berends ET, Gorham RD, Jr., Ruyken M, Soppe JA, Orhan H, Aerts PC, et al. Molecular insights into the surface-specific arrangement of complement C5 convertase enzymes. *BMC Biol.* 2015;13:93.
114. Jore MM, Johnson S, Sheppard D, Barber NM, Li YI, Nunn MA, et al. Structural basis for therapeutic inhibition of complement C5. *Nat Struct Mol Biol.* 2016;23(5):378-86.
115. Bubeck D. The making of a macromolecular machine: assembly of the membrane attack complex. *Biochemistry.* 2014;53(12):1908-15.
116. Kirkitadze MD, Barlow PN. Structure and flexibility of the multiple domain proteins that regulate complement activation. *Immunol Rev.* 2001;180:146-61.
117. Schmidt CQ, Lambris JD, Ricklin D. Protection of host cells by complement regulators. *Immunol Rev.* 2016;274(1):152-71.
118. Jourde-Chiche N, Fakhouri F, Dou L, Bellien J, Burtey S, Frimat M, et al. Endothelium structure and function in kidney health and disease. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15(2):87-108.
119. Roversi P, Johnson S, Caesar JJ, McLean F, Leath KJ, Tsiftoglou SA, et al. Structural basis for complement factor I control and its disease-associated sequence polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(31):12839-44.
120. Gordon DL, Kaufman RM, Blackmore TK, Kwong J, Lublin DM. Identification of complement regulatory domains in human factor H. *J Immunol.* 1995;155(1):348-56.
121. Heinen S, Hartmann A, Lauer N, Wiehl U, Dahse HM, Schirmer S, et al. Factor H-related protein 1 (CFHR-1) inhibits complement C5 convertase activity and terminal complex formation. *Blood.* 2009;114(12):2439-47.
122. Abarrategui-Garrido C, Martinez-Barricarte R, Lopez-Trascasa M, de Cordoba SR, Sanchez-Corral P. Characterization of complement factor H-related (CFHR) proteins in plasma reveals novel genetic variations of CFHR1 associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2009;114(19):4261-71.
123. Skerka C, Chen Q, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement factor H related proteins (CFHRs). *Mol Immunol.* 2013;56(3):170-80.
124. Yamamoto H, Fara AF, Dasgupta P, Kemper C. CD46: the 'multitasker' of complement proteins. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(12):2808-20.
125. Espinosa R, 3rd, Sadler JE, Le Beau MM. Regional localization of the human thrombomodulin gene to 20p12-cen. *Genomics.* 1989;5(3):649-50.
126. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 2009;361(4):345-57.
127. Lawrence DW, Bruyninckx WJ, Louis NA, Lublin DM, Stahl GL, Parkos CA, et al. Antiadhesive role of apical decay-accelerating factor (CD55) in human neutrophil transmigration across mucosal epithelia. *J Exp Med.* 2003;198(7):999-1010.
128. Jenne DE, Tschopp J. Clusterin: the intriguing guises of a widely expressed glycoprotein. *Trends Biochem Sci.* 1992;17(4):154-9.
129. Falk RJ, Podack E, Dalmaso AP, Jennette JC. Localization of S protein and its relationship to the membrane attack complex of complement in renal tissue. *Am J Pathol.* 1987;127(1):182-90.
130. Dahlback B, Podack ER. Characterization of human S protein, an inhibitor of the membrane attack complex of complement. Demonstration of a free reactive thiol group. *Biochemistry.* 1985;24(9):2368-74.
131. Podack ER, Preissner KT, Muller-Eberhard HJ. Inhibition of C9 polymerization within the SC5b-9 complex of complement by S-protein. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Suppl.* 1984;284:89-96.
132. Bu F, Zhang Y, Wang K, Borsa NG, Jones MB, Taylor AO, et al. Genetic Analysis of 400 Patients Refines Understanding and Implicates a New Gene in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2018.
133. Jenne DE, Tschopp J. Molecular structure and functional characterization of a human complement cytolysis inhibitor found in blood and seminal plasma: identity to sulfated

- glycoprotein 2, a constituent of rat testis fluid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(18):7123-7.
134. Okada N, Harada R, Fujita T, Okada H. A novel membrane glycoprotein capable of inhibiting membrane attack by homologous complement. *Int Immunol*. 1989;1(2):205-8.
135. Davies A, Simmons DL, Hale G, Harrison RA, Tighe H, Lachmann PJ, et al. CD59, an LY-6-like protein expressed in human lymphoid cells, regulates the action of the complement membrane attack complex on homologous cells. *J Exp Med*. 1989;170(3):637-54.
136. Tone M, Walsh LA, Waldmann H. Gene structure of human CD59 and demonstration that discrete mRNAs are generated by alternative polyadenylation. *J Mol Biol*. 1992;227(3):971-6.
137. Motoyama N, Okada N, Yamashina M, Okada H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria due to hereditary nucleotide deletion in the HRF20 (CD59) gene. *Eur J Immunol*. 1992;22(10):2669-73.
138. Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Blouin J, Vigneau C, Kuypers D, Boudailliez B, et al. Complement factor I: a susceptibility gene for atypical haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet*. 2004;41(6):e84.
139. Noris M, Brioschi S, Caprioli J, Todeschini M, Bresin E, Porrati F, et al. Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation. *Lancet*. 2003;362(9395):1542-7.
140. Richards A, Kemp EJ, Liszewski MK, Goodship JA, Lampe AK, Decorte R, et al. Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), predispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(22):12966-71.
141. Roumenina LT, Jablonski M, Hue C, Blouin J, Dimitrov JD, Dragon-Durey MA, et al. Hyperfunctional C3 convertase leads to complement deposition on endothelial cells and contributes to atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2009;114(13):2837-45.
142. Volokhina E, Westra D, Xue X, Gros P, van de Kar N, van den Heuvel L. Novel C3 mutation p.Lys65Gln in aHUS affects complement factor H binding. *Pediatr Nephrol*. 2012;27(9):1519-24.
143. Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J, Carreras L, Arranz EA, Garrido CA, et al. Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(1):240-5.
144. Rodriguez E, Rallapalli PM, Osborne AJ, Perkins SJ. 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).
145. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, 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.
146. Yoshida Y, Kato H, Ikeda Y, Nangaku M. Pathogenesis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Atheroscler Thromb*. 2018.
147. Venables JP, Strain L, Routledge D, Bourn D, Powell HM, Warwicker P, et al. Atypical haemolytic uraemic syndrome associated with a hybrid complement gene. *PLoS Med*. 2006;3(10):e431.
148. Valoti E, Alberti M, Tortajada A, Garcia-Fernandez J, Gastoldi S, Besso L, et al. A novel atypical hemolytic uremic syndrome-associated hybrid CFHR1/CFH gene encoding a fusion protein that antagonizes factor H-dependent complement regulation. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(1):209-19.
149. Goicoechea de Jorge E, Tortajada A, Garcia SP, Gastoldi S, Merinero HM, Garcia-Fernandez J, et al. Factor H Competitor Generated by Gene Conversion Events Associates with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(1):240-9.
150. Dragon-Durey MA, Loirat C, Cloarec S, Macher MA, Blouin J, Nivet H, et al. Anti-Factor H autoantibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(2):555-63.

151. Nozal P, Bernabeu-Herrero ME, Uzonyi B, Szilagyi A, Hyvarinen S, Prohaszka Z, et al. Heterogeneity but individual constancy of epitopes, isotypes and avidity of factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2016;70:47-55.
152. Jozsi M, Licht C, Strobel S, Zipfel SL, Richter H, Heinen S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood*. 2008;111(3):1512-4.
153. Caprioli J, Bettinaglio P, Zipfel PF, Amadei B, Daina E, Gamba S, et al. The molecular basis of familial hemolytic uremic syndrome: mutation analysis of factor H gene reveals a hot spot in short consensus repeat 20. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(2):297-307.
154. Perez-Caballero D, Gonzalez-Rubio C, Gallardo ME, Vera M, Lopez-Trascasa M, Rodriguez de Cordoba S, et al. Clustering of missense mutations in the C-terminal region of factor H in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*. 2001;68(2):478-84.
155. Sanchez-Corral P, Perez-Caballero D, Huarte O, Simckes AM, Goicoechea E, Lopez-Trascasa M, et al. Structural and functional characterization of factor H mutations associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Hum Genet*. 2002;71(6):1285-95.
156. Manuelian T, Hellwage J, Meri S, Caprioli J, Noris M, Heinen S, et al. Mutations in factor H reduce binding affinity to C3b and heparin and surface attachment to endothelial cells in hemolytic uremic syndrome. *J Clin Invest*. 2003;111(8):1181-90.
157. Jokiranta TS, Jaakola VP, Lehtinen MJ, Parepalo M, Meri S, Goldman A. Structure of complement factor H carboxyl-terminus reveals molecular basis of atypical haemolytic uremic syndrome. *EMBO J*. 2006;25(8):1784-94.
158. Hyvarinen S, Meri S, Jokiranta TS. Disturbed sialic acid recognition on endothelial cells and platelets in complement attack causes atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2016;127(22):2701-10.
159. Sanchez-Corral P, Pouw RB, Lopez-Trascasa M, Jozsi M. Self-Damage Caused by Dysregulation of the Complement Alternative Pathway: Relevance of the Factor H Protein Family. *Front Immunol*. 2018;9:1607.
160. Zipfel PF, Edey M, Heinen S, Jozsi M, Richter H, Misselwitz J, et al. Deletion of complement factor H-related genes CFHR1 and CFHR3 is associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *PLoS Genet*. 2007;3(3):e41.
161. Challis RC, Araujo GS, Wong EK, Anderson HE, Awan A, Dorman AM, et al. A De Novo Deletion in the Regulators of Complement Activation Cluster Producing a Hybrid Complement Factor H/Complement Factor H-Related 3 Gene in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(6):1617-24.
162. Kavanagh D, Kemp EJ, Mayland E, Winney RJ, Duffield JS, Warwick G, et al. Mutations in complement factor I predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(7):2150-5.
163. Kavanagh D, Richards A, Noris M, Hauhart R, Liszewski MK, Karpman D, et al. Characterization of mutations in complement factor I (CFI) associated with hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2008;45(1):95-105.
164. Fremeaux-Bacchi V, Moulton EA, Kavanagh D, Dragon-Durey MA, Blouin J, Caudy A, et al. Genetic and functional analyses of membrane cofactor protein (CD46) mutations in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(7):2017-25.
165. Martinez-Barricarte R, Heurich M, Lopez-Perrote A, Tortajada A, Pinto S, Lopez-Trascasa M, et al. The molecular and structural bases for the association of complement C3 mutations with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2015;66(2):263-73.
166. Roumenina LT, Frimat M, Miller EC, Provot F, Dragon-Durey MA, Bordereau P, et al. A prevalent C3 mutation in aHUS patients causes a direct C3 convertase gain of function. *Blood*. 2012;119(18):4182-91.
167. Fremeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, Strain L, Blouin J, Brown AL, et al. Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2008;112(13):4948-52.

168. Esparza-Gordillo J, Soria JM, Buil A, Almasy L, Blangero J, Fontcuberta J, et al. Genetic and environmental factors influencing the human factor H plasma levels. *Immunogenetics*. 2004;56(2):77-82.
169. Sansbury FH, Cordell HJ, Bingham C, Bromilow G, Nicholls A, Powell R, et al. Factors determining penetrance in familial atypical haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet*. 2014;51(11):756-64.
170. Nozal P, Garrido S, Alba-Dominguez M, Espinosa L, Pena A, Cordoba SR, et al. An ELISA assay with two monoclonal antibodies allows the estimation of free factor H and identifies patients with acquired deficiency of this complement regulator. *Mol Immunol*. 2014;58(2):194-200.
171. Merinero HM, Garcia SP, Garcia-Fernandez J, Arjona E, Tortajada A, Rodriguez de Cordoba S. Complete functional characterization of disease-associated genetic variants in the complement factor H gene. *Kidney Int*. 2018;93(2):470-81.
172. Loirat C, Sonsino E, Hinglais N, Jais JP, Landais P, Fermanian J. Treatment of the childhood haemolytic uraemic syndrome with plasma. A multicentre randomized controlled trial. *The French Society of Paediatric Nephrology. Pediatr Nephrol*. 1988;2(3):279-85.
173. Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS. Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med*. 1991;325(6):398-403.
174. Hill A. Eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2005;3(11):849-50.
175. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V, French Study Group for a HCG. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(11):643-57.
176. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2013;368(23):2169-81.
177. Licht C, Greenbaum LA, Muus P, Babu S, Bedrosian CL, Cohen DJ, et al. Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int*. 2015;87(5):1061-73.
178. Greenbaum LA, Fila M, Ardissino G, Al-Akash SI, Evans J, Henning P, et al. Eculizumab is a safe and effective treatment in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int*. 2016;89(3):701-11.
179. Fakhouri F, Hourmant M, Campistol JM, Cataland SR, Espinosa M, Gaber AO, et al. Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Adult Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Single-Arm, Open-Label Trial. *Am J Kidney Dis*. 2016;68(1):84-93.
180. Vilalta R, Lara E, Madrid A, Chocron S, Munoz M, Casquero A, et al. Long-term eculizumab improves clinical outcomes in atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2012;27(12):2323-6.
181. Menne J, Delmas Y, Fakhouri F, Licht C, Lommele A, Minetti EE, et al. Outcomes in patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated with eculizumab in a long-term observational study. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):125.
182. Cao M, Leite BN, Ferreiro T, Calvo M, Fernandez C, Alonso A, et al. Eculizumab Modifies Outcomes in Adults with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome with Acute Kidney Injury. *Am J Nephrol*. 2018;48(3):225-33.
183. Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, et al. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2000;105(10):1363-71.
184. Le Quintrec M, Zuber J, Moulin B, Kamar N, Jablonski M, Lionet A, et al. Complement genes strongly predict recurrence and graft outcome in adult renal transplant recipients with atypical hemolytic and uremic syndrome. *Am J Transplant*. 2013;13(3):663-75.
185. Zimmerhackl LB, Hofer J, Cortina G, Mark W, Wurznner R, Jungraithmayr TC, et al. Prophylactic eculizumab after renal transplantation in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2010;362(18):1746-8.

186. Nester C, Stewart Z, Myers D, Jetton J, Nair R, Reed A, et al. Pre-emptive eculizumab and plasmapheresis for renal transplant in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(6):1488-94.
187. Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, et al. Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12(12):3337-54.
188. Pelicano MB, de Cordoba SR, Diekmann F, Saiz M, Herrero S, Oppenheimer F, et al. Anti-C5 as prophylactic therapy in atypical hemolytic uremic syndrome in living-related kidney transplantation. *Transplantation*. 2013;96(4):e26-9.
189. Siedlecki AM, Isbel N, Vande Walle J, James Eggleston J, Cohen DJ, Global a HUSR. Eculizumab Use for Kidney Transplantation in Patients With a Diagnosis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *Kidney Int Rep*. 2019;4(3):434-46.
190. Zuber J, Frimat M, Caillard S, Kamar N, Gatault P, Petitprez F, et al. Use of Highly Individualized Complement Blockade Has Revolutionized Clinical Outcomes after Kidney Transplantation and Renal Epidemiology of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2019;30(12):2449-63.
191. Keenswijk W. Eculizumab is Efficacious But Often Not Accessible. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2019;41(1):78-9.
192. Ardissino G, Testa S, Possenti I, Tel F, Paglialonga F, Salardi S, et al. Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: a report of 10 cases. *Am J Kidney Dis*. 2014;64(4):633-7.
193. 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;66(1):172-3.
194. Naranjo Munoz J, Garcia Garcia-Doncel A, Montero Escobar ME, Villanego Fernandez F, Millan Ortega I, Ceballos Guerrero M. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. How long should we maintain it? *Nefrologia*. 2019.
195. Wijnsma KL, Ter Heine R, Moes D, Langemeijer S, Schols SEM, Volokhina EB, et al. Pharmacology, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Eculizumab, and Possibilities for an Individualized Approach to Eculizumab. *Clin Pharmacokinet*. 2019.
196. Passot C, Desvignes C, Ternant D, Bejan-Angoulvant T, Dureau AC, Gatault P, et al. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay to measure free eculizumab concentration in serum. *Bioanalysis*. 2017;9(16):1227-35.
197. Nishimura J. [Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab]. *Rinsho Ketsueki*. 2015;56(7):855-60.
198. Harder MJ, Kuhn N, Schrezenmeier H, Hochsmann B, von Zabern I, Weinstock C, et al. Incomplete inhibition by eculizumab: mechanistic evidence for residual C5 activity during strong complement activation. *Blood*. 2017;129(8):970-80.
199. Rodriguez E, Barrios C, Soler MJ. Should eculizumab be discontinued in patients with atypical hemolytic uremic syndrome? *Clin Kidney J*. 2017;10(3):320-2.
200. Ariceta G. Optimal duration of treatment with eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS)-a question to be addressed in a scientific way. *Pediatr Nephrol*. 2019.
201. Macia M, de Alvaro Moreno F, Dutt T, Fehrman I, Hadaya K, Gasteyger C, et al. Current evidence on the discontinuation of eculizumab in patients with atypical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Kidney J*. 2017;10(3):310-9.
202. Volokhina E, Wijnsma K, van der Molen R, Roeleveld N, van der Velden T, Goertz J, et al. Eculizumab Dosing Regimen in Atypical HUS: Possibilities for Individualized Treatment. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(4):671-8.
203. Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol*. 2017;187(2):304-15.

204. Volokhina EB, van de Kar NC, Bergseth G, van der Velden TJ, Westra D, Wetzels JF, et al. Sensitive, reliable and easy-performed laboratory monitoring of eculizumab therapy in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin Immunol*. 2015;160(2):237-43.
205. Kerboua KE, Haiba F, Batouche D. C3:CH50 ratio as a proposed composite marker for eculizumab monitoring in atypical hemolytic uremic syndrome: Preliminary results. *J Immunoassay Immunochem*. 2017;38(2):178-89.
206. Galbusera M, Noris M, Gastoldi S, Bresin E, Mele C, Breno M, et al. An Ex Vivo Test of Complement Activation on Endothelium for Individualized Eculizumab Therapy in Hemolytic Uremic Syndrome. *Am J Kidney Dis*. 2019.
207. Palomo M, Blasco M, Molina P, Lozano M, Praga M, Torramade-Moix S, et al. Complement Activation and Thrombotic Microangiopathies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2019;14(12):1719-32.
208. Milan Manani S, Virzi GM, Ronco C. Long-term Use of Eculizumab in Kidney Transplant Recipients. *Kidney Int Rep*. 2019;4(3):370-1.
209. Fakhouri F, Fila M, Provot F, Delmas Y, Barbet C, Chatelet V, et al. Pathogenic Variants in Complement Genes and Risk of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Relapse after Eculizumab Discontinuation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(1):50-9.
210. Duineveld C, Verhave JC, Berger SP, van de Kar N, Wetzels JFM. Living Donor Kidney Transplantation in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Case Series. *Am J Kidney Dis*. 2017;70(6):770-7.
211. van den Brand JA, Verhave JC, Adang EM, Wetzels JF. Cost-effectiveness of eculizumab treatment after kidney transplantation in patients with atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(suppl_1):i115-i22.
212. Noris M, Ruggenti P, Remuzzi G. Kidney Transplantation in Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: A Therapeutic Dilemma (or Not)? *Am J Kidney Dis*. 2017;70(6):754-7.
213. Jalanko H, Peltonen S, Koskinen A, Puntila J, Isoniemi H, Holmberg C, et al. Successful liver-kidney transplantation in two children with aHUS caused by a mutation in complement factor H. *Am J Transplant*. 2008;8(1):216-21.
214. Cheong HI. Trombotic microangiopathy: can liver-kidney transplantation cure aHUS? *Nat Rev Nephrol*. 2009;5(10):556-7.
215. Saland JM, Ruggenti P, Remuzzi G, Consensus Study G. Liver-kidney transplantation to cure atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(5):940-9.
216. Saland JM, Shneider BL, Bromberg JS, Shi PA, Ward SC, Magid MS, et al. Successful split liver-kidney transplant for factor H associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(1):201-6.
217. Coppo R, Bonaudo R, Peruzzi RL, Amore A, Brunati A, Romagnoli R, et al. Liver transplantation for aHUS: still needed in the eculizumab era? *Pediatr Nephrol*. 2016;31(5):759-68.
218. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clin Exp Nephrol*. 2019;23(1):65-75.
219. Padmanabhan A, Connelly-Smith L, Aqui N, Balogun RA, Klingel R, Meyer E, et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice - Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Eighth Special Issue. *J Clin Apher*. 2019;34(3):171-354.
220. Ministerio de Sanidad SSeI. Estrategia en Enfermedades Raras del Sistema Nacional de Salud. Actualización aprobada por el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud el 11 de Junio de 2014, . 2014.
- 44% (21)
221. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. 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;17(5):405-24.

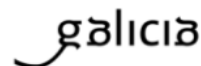
222. Fernie BA, Orren A, Sheehan G, Schlesinger M, Hobart MJ. Molecular bases of C7 deficiency: three different defects. *J Immunol.* 1997;159(2):1019-26.
223. Vazquez-Bermudez MF, Barroso S, Walter K, Alvarez AJ, Alarcon A, Lopez-Trascasa M, et al. Complement component C7 deficiency in a Spanish family. *Clin Exp Immunol.* 2003;133(2):240-6.
224. Barroso S, Rieubland C, Jose alvarez A, Lopez-Trascasa M, Bart PA, Nunez-Roldan A, et al. Molecular defects of the C7 gene in two patients with complement C7 deficiency. *Immunology.* 2006;118(2):257-60.
225. Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, Goodship TH, working party from the Renal Association tBCfSiH, the British Transplantation S. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol.* 2010;148(1):37-47.
226. Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A, Blanc C, Blouin J, Ranchin B, et al. Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(12):2180-7.
227. Rerolle JP, Canaud G, Fakhouri F, Aaron L, Morelon E, Peraldi MN, et al. Thrombotic microangiopathy and hypothermia in an HIV-positive patient: importance of cytomegalovirus infection. *Scand J Infect Dis.* 2004;36(3):234-7.
228. Shah TA, Mauriello CT, Hair PS, Sandhu A, Stolz MP, Bass WT, et al. Clinical hypothermia temperatures increase complement activation and cell destruction via the classical pathway. *J Transl Med.* 2014;12:181.
229. Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, et al. Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One.* 2010;5(4):e10208.
230. Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, Halbwachs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods.* 2011;365(1-2):8-26.
231. Barroso S, Sanchez B, Alvarez AJ, Lopez-Trascasa M, Lanuza A, Luque R, et al. Complement component C7 deficiency in two Spanish families. *Immunology.* 2004;113(4):518-23.
232. Pishko AM AG. Predicting the temporal course of laboratory abnormality resolution in patients with thrombotic microangiopathy. *Blood.* 2014;124(Suppl 21):ASH abstract 4192.
233. Legendre CM, Campistol JM, Feldkamp T, Remuzzi G, Kincaid JF, Lommele A, et al. Outcomes of patients with atypical haemolytic uraemic syndrome with native and transplanted kidneys treated with eculizumab: a pooled post hoc analysis. *Transpl Int.* 2017.
234. Alonso Valente R, Garcia Rodriguez GE, Garcia Marcote Y, Fidalgo Diaz M, Becerra Mosquera V, Novoa Garcia D, et al. Discontinuation of Peritoneal Dialysis after Late Initiation of Eculizumab in a Case of Familial Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome: A Case Report. *Case Rep Nephrol Dial.* 2017;7(1):18-25.
235. Tran CL, Sethi S, Murray D, Cramer CH, Sas DJ, Willrich M, et al. Discontinuation of dialysis with eculizumab therapy in a pediatric patient with dense deposit disease. *Pediatr Nephrol.* 2016;31(4):683-7.
236. Fakhouri F, Delmas Y, Provot F, Barbet C, Karras A, Makdassi R, et al. Insights from the use in clinical practice of eculizumab in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome affecting the native kidneys: an analysis of 19 cases. *Am J Kidney Dis.* 2014;63(1):40-8.
237. Valoti E, Noris M, Perna A, Rurali E, Gherardi G, Breno M, et al. Impact of a Complement Factor H Gene Variant on Renal Dysfunction, Cardiovascular Events, and Response to ACE Inhibitor Therapy in Type 2 Diabetes. *Front Genet.* 2019;10:681.
238. Michon B, Moghrabi A, Winikoff R, Barrette S, Bernstein ML, Champagne J, et al. Complications of apheresis in children. *Transfusion.* 2007;47(10):1837-42.

13 ANEXOS

13.1 AUTORIZACIÓN DEL CEIC DE GALICIA



Secretaría Técnica
Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia
Secretaría Xeral, Concellería de Sanidade
Edificio Administrativo San Lázaro
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Tel: 881 546425; ceic@sergas.es



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE A CORUÑA-FERROL

Carlos Rodríguez Moreno, Secretario del Comité de Ética de la Investigación de A Coruña-Ferrol

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 12/17/2015 el estudio:

Título: Síndrome hemolítico urémico del adulto: Alteraciones genéticas, manifestaciones clínicas, daño estructural y pronóstico. Análisis de una cohorte.

Promotor: Mercedes Cao Vilariño

Tipo de estudio: Otros

Version:

Código del Promotor:

Código de Registro: 2015/482

Y, tomando en consideración las siguientes cuestiones:

- La pertinencia del estudio, teniendo en cuenta el conocimiento disponible, así como los requisitos legales aplicables, y en particular la Ley 14/2007, de investigación biomédica, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, la ORDEN SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las Directrices sobre estudios Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano, y el la Circular nº 07 / 2004, investigaciones clínicas con productos sanitarios.
- La idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, así como los beneficios esperados.
- Los principios éticos de la Declaración de Helsinki vigente.
- Los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité.

Emite un **INFORME FAVORABLE** para la realización del estudio por el/la investigador/a del centro:

Centros	Investigadores Principales
C.H. Universitario de A Coruña	Mercedes Cao Vilariño

En Santiago de Compostela, a
El secretario

NOMBRE
RODRIGUEZ
MORENO CARLOS
- NIF 05614327G

Firmado digitalmente por NOMBRE
RODRIGUEZ MORENO CARLOS -NIF
0561 4327G
Nombre de reconocimiento (DN) c=ES,
ou=PPRAT, ou=PPRAT Clase 2 CA,
ou=0210101511, cn=RODRIGUEZ
RODRIGUEZ MORENO CARLOS -NIF
0561 4327G
Fecha: 2015.11.22 08:51:18 +0100'