



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

RACCOMANDAZIONI
PER LE MICROANGIOPATIE TROMBOTICHE
(TMAs)
(codice esenzione RGG010)



**REGIONE
PIEMONTE**

Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

Sommario

1. INTRODUZIONE.....	3
Premessa.....	3
Definizione	3
2. RACCOMANDAZIONI DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE	5
CRITERI DI ACCESSO E INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO	5
Il sospetto di TMA nel paziente ricoverato o che accede al Pronto Soccorso	6
APPROCCIO TERAPEUTICO.....	9
Diagramma 1 – Diagnosi eziopatologica della causa di TMA ed approccio terapeutico.....	9
Pazienti pediatrici	10
Deficit di proteasi ADAMTS13 - Porpora trombotica trombocitopenica (PTT).....	11
Disregolazione del complemento.....	12
TMA Secondarie.....	13
3 BIBLIOGRAFIA	17
4 REDAZIONE DEL DOCUMENTO	22
Coordinatori:.....	22
Estensori del documento	22
Partecipanti al gruppo tecnico:.....	22
5. AGGIORNAMENTI	23
6 ALLEGATI.....	24
Allegato 1: il paziente pediatrico	24
PREMESSE	24
DEFINIZIONE DI SEU ATIPICA	24
DIAGNOSI DI SEU ATIPICA.....	24
TERAPIA DELLA SEU ATIPICA.....	25
Allegato 2: Score di Rose	29



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

1. INTRODUZIONE

Premessa

La stesura di questo documento ha coinvolto numerosi medici di svariate specialità operanti in molte strutture sanitarie appartenenti alla Rete per le Malattie Rare del Piemonte e della Valle d'Aosta che hanno con la loro esperienza, impegno e partecipazione dato un contributo fondamentale nell'approcciare e gestire la tematica delle microangiopatie trombotiche.

Il documento è stato redatto in modo schematico per offrire una consultazione rapida, utile in termini diagnostici e pratici, cercando di fornire un iter graduale al problema. Per questo motivo si è pensato di offrire una veste grafica comprendente una guida base corredata da numerosi riferimenti schematici per permettere di orientare gli operatori su di una patologia che riconosce un meccanismo effetto finale simile, ma una patogenesi al momento multifattoriale condizionante le manifestazioni cliniche e gli attuali approcci terapeutici.

L'interesse scientifico, le progressive recenti scoperte e la possibilità di impiegare nuovi farmaci per il trattamento di questa patologia stanno modificando rapidamente in questo campo lo scenario clinico-terapeutico, saranno pertanto previsti aggiornamenti a questa prima stesura.

Una disanima più dettagliata degli argomenti trattati in queste raccomandazioni è disponibile sul sito della rete interregionale per le malattie rare del Piemonte e della Valle d'Aosta (www.malattierapiemonte.it).

Definizione

Le microangiopatie trombotiche (TMAs) comprendono un gruppo di malattie distinte, con manifestazioni molto diverse che possono insorgere sia in età pediatrica che nell'adulto. Possono essere ereditarie od acquisite, ad esordio subdolo o rapidamente ingravescente e sono particolarmente temute per morbilità e mortalità.

Per la loro rarità, le informazioni cliniche e i risultati terapeutici provengono generalmente da "case reports", piccole serie, registri e reviews. L'insieme delle singole osservazioni, l'evoluzione della diagnostica di laboratorio che ha identificato in parte di queste TMAs anomalie autoimmuni e/o genetiche nella processazione post secrezione del fattore di von Willenbrand o alterazioni genetico-funzionali della regolazione della via alterna del complemento, e, soprattutto, l'introduzione di trattamenti avanzati, hanno permesso di preservare gli organi colpiti e migliorare la sopravvivenza.

Nonostante le TMA possano riconoscere una diversa eziopatogenesi hanno come comune denominatore la presenza di lesioni patologiche caratterizzate da danno endoteliale e dalla formazione di trombi ricchi di piastrine a livello microvascolare; il danno trombotico del microcircolo induce un'anemia emolitica "meccanica" (microangiopatica), piastrinopenia da consumo e danno ischemico d'organo. La tabella seguente indica le principali cause di TMA.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

Tabella 1 Classificazione della sindrome emolitico-uremica (SEU), porpora trombotica trombocitopenica (PTT) e altre patologie associate a TMA:		
<u>EZIOLOGIA DEFINITA</u>	<u>CONDIZIONI ASSOCIATE</u>	<u>FARMACO INDOTTE (TOSSICITÀ DIRETTA/IMMUNOMEDIATE)</u> <i>(riportati farmaci più frequentemente coinvolti)</i>
1) CAUSE INFETTIVE a) Shiga Toxin 1e 2 associate: E.Coli, Shigella dysenteriae, altri batteri (STEC-SEU/SEU diarrea+) b) Infezione sistemica da Streptococco Pneumoniae (Sp-SEU), Clostridium difficile	1) HIV E ALTRE INFEZIONI VIRALI 2) NEOPLASIE (stadio avanzato) 3) TRAPIANTO a) Midollo allogenico/autologo b) Organi solidi 4) GRAVIDANZA a) HELLP syndrome b) Preeclampsia c) Trigger per TTP o SEU 5) MALATTIE DEL TESSUTO CONNETTIVO a) Lupus eritematoso sistemico b) Sindrome da anticorpi antifosfolipidi c) Sclerodermia d) Vasculiti	1) TIENOPIRIDINE a) Ticlopidina, Clopidogrel 2) INIBITORI DELLE CALCINEURINE a) Ciclosporina, Tacrolimus 3) mTOR INIBITORI a) Sirolimus, everolimus 4) CHEMIOTERAPICI a) Mitomicina, Gemcitabina 5) CHININO
2) DISREGOLAZIONE DEL COMPLEMENTO (SEU atipica) a) Genetica b) Acquisita (anti fattore H)		
3) DEFICIT DI PROTEASI ADAMTS13 (PTT) a) Genetica (Upshaw- Schulman syndrome) b) Acquisita		
4) ALTERAZIONI METABOLISMO COBALAMINA (B12)	6) GLOMERULONEFRITI 7) PANCREATITE 8) IPERTENSIONE MALIGNA 9) RADIAZIONI IONIZZANTI 10) ALTRE FORME FAMILIARI	



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

2. RACCOMANDAZIONI DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE

CRITERI DI ACCESSO E INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO

Le manifestazioni cliniche delle TMAs sono molto variabili, da situazioni di emergenza che necessitano di livelli di cura elevati, ad andamenti subdoli a volte diagnosticabili solamente tramite biopsia renale (organo principalmente coinvolto dal danno microangiopatico) e frequentemente la diagnosi coinvolge un ampio intervento specialistico multidisciplinare. I dati di laboratorio iniziali (emolisi meccanica, piastrinopenia) possono riscontrarsi in altri quadri patologici, oppure essere molto sfumati, in queste condizioni l'approccio clinico può diventare dirimente.

La tabella 2 riporta l'insieme dei dati clinico-laboratoristici che classicamente individuano una TMA.

Tabella 2: Diagnosi di microangiopatia trombotica (TMA)		
ANOMALIE DI LABORATORIO		<ul style="list-style-type: none"> • Piastrine < 150.000 mm³ o < 25% del valore basale • Emolisi meccanica (test di Coombs diretto negativo) <ul style="list-style-type: none"> ○ > LDH e/o ○ Hb < 10 g % ○ < aptoglobina ○ Schistociti > 2% • > creatininemia (frequente) e/o anomalie orinarie (proteinuria/microematuria) Inoltre: <ul style="list-style-type: none"> • Reticolocitosi • > bilirubina indiretta
SINTOMI CLINICI	Uno o più sintomi clinici <u>possono essere associati alle anomalie di laboratorio in base alla gravità.</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Neurologici (confusione, cefalea, afasia, epilessia, disartria, calo del visus, encefalopatia, coma) • Gastrointestinali (diarrea, diarrea ematica) • Cardiologici (infarto, aritmie, scompenso cardiaco) • Polmonari (emoftoe) • Ipertensione severa di recente insorgenza



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

Il sospetto di TMA nel paziente ricoverato o che accede al Pronto Soccorso

In base a quanto indicato nella tabella 1 gli estensori di questo documento propongono il seguente schema utile nel sospettare la presenza di TMA nell'approccio iniziale al paziente che afferisca in una struttura di primo soccorso (tabella 3).

Tabella 3: dal sospetto di TMA alla diagnosi nel paziente che accede al Pronto Soccorso		
1. INDICI DI SOSPETTO	<ul style="list-style-type: none"> Il sospetto di TMA si ha qualora siano presenti TUTTI I PARAMETRI INDICATI NB: i parametri di laboratorio <u>vanno rivalutati nel tempo</u> in quanto i loro valori possono variare 	<ul style="list-style-type: none"> Piastrinopenia < 150.000 mm³ o < 25% del valore basale > LDH Hb < 10 g % > creatininemia e/o anomalie urinarie Tempo di protrombina, tromboplastina, antitrombina III nella norma
2. DATI CLINICO-ANAMNESTICI	Nel sospetto di TMA valutare se si associno 1 o più dei dati clinico-anamnestici indicati	<ul style="list-style-type: none"> Diarrea, diarrea ematica Sintomi neurologici (confusione, cefalea, afasia, epilessia, disartria, calo del visus, encefalopatia, coma) Iperpiressia Ipertensione severa di recente insorgenza Sintomi e segni cardiologici (infarto, aritmie, scompenso cardiaco) Emorragia polmonare, petecchie, menometrorragie, ematuria, emorragie retiniche, epistassi Gangrene delle estremità Infezioni: HIV, polmonite,epatite, ascessi, altri virus Ittero Edemi / Contrazione della diuresi Anamnesi di neoplasia o neoplasie in atto Anamnesi di malattie autoimmuni Gravidanza (occorre valutare anche la settimana di gravidanza) Anamnesi farmacologica: clopidrogel, ticlopidina, contraccettivi orali, ciclosporina, tacrolimus, rapamicina, everolimus, mitomicina, gemcitabina, cisplatino, Anti-VEGF, IFN Beta1, Paraquat
3. SE LA CLINICA E I DATI DI LABORATORIO SUPPORTANO IL SOSPETTO	Valutare	<ul style="list-style-type: none"> Test di Coombs diretto monospecifico Aptoglobina Schistociti Reticolociti
4. DIAGNOSI DI TMA	In caso di positività di <ul style="list-style-type: none"> indici di sospetto + 1 o più dei dati clinico anamnestici + Dati di laboratorio di supporto 	<ul style="list-style-type: none"> Procedere con quanto indicato nel diagramma 1 per giungere ad una diagnosi eziopatologica della TMA e conseguentemente adottare un approccio terapeutico adeguato.
5. BASSA PROBABILITA' DI TMA	Rappresentano situazioni che se presenti correlano con una bassa probabilità di TMA	<ul style="list-style-type: none"> Cirrosi epatica Deficiti severo di vitamina B12 (MCV >) Emopatie acute

NB In caso di estrema gravità di presentazione del quadro clinico occorre effettuare una rapida scelta terapeutica in base alla "best practice"



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

Diagnosi eziologica - Prelievi pre-trattamento

Nel caso venga confermata la diagnosi di TMA occorre procedere con gli ulteriori accertamenti atti a valutare l'eziologia della stessa.

È di fondamentale importanza poter disporre di campioni biologici prima di iniziare qualsiasi tipo di trattamento, in quanto i risultati possono fortemente condizionare l'approccio clinico-terapeutico successivo e possono essere inficiati da interventi farmacologici o infusione di plasma. Sia la standardizzazione che la tempistica dei risultati stanno assumendo sempre di più un ruolo cardine all'interno di queste complesse patologie.

Tabella 4: prelievi pre-trattamento		
<i>Prelievi per le valutazioni eziologiche</i>	<i>Prelievi Per esami immunologici consigliati</i>	<i>Altri esami</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Attività ADAMTS13 • Anticorpi antiADAMTS13 • Dosaggio fattori del complemento: <ul style="list-style-type: none"> ○ Fattore H ○ Anticorpi anti fattore H ○ MCP ○ Fattore I • Ricerca Shiga tossine 1 e 2 su feci 	<ul style="list-style-type: none"> • Complementemia C3-C4 • FAN • AntiDNA • Scl 70 (Anti ENA) • Anticorpi antifosfolipidi: <ul style="list-style-type: none"> ○ Anti Beta2 glicoproteina 1 IgG/IgM ○ Anticardiolipina IgG/IgM ○ LLAC • CH50 	<ul style="list-style-type: none"> • Gruppo Sanguigno • Coombs IgM + Ag Pneumococco orinario (se polmonite) • Amilasi • Troponina T • Calcemia • Epatite B/C • HIV • Omocisteinemia (per eventuale TMA da deficit di cobalamina)
Modalità di prelievo e stoccaggio dei campioni andranno concordati con i laboratori		

Segnaliamo:

- La ricerca nelle feci di Shigatoxin 1 e 2 prodotte da E.Coli (STEC 1 e 2) è necessaria in tutti i casi sospetti, anche in assenza di diarrea recente, perché la tossina può ancora essere presente a bassa carica come trigger di TMA, ed inoltre la sua esclusione consente attualmente di poter intraprendere terapie con farmaci biologici come da indicazione Ministeriale;
- La Shigatoxin può essere prodotta anche da altri ceppi batterici oltre E.Coli o da E. Coli non tradizionali. Occorre pertanto un metodo di determinazione molto sensibile, rapido e specificamente mirato sulle tossine. In letteratura la tecnica consigliata è l'impiego di tecniche di amplificazione delle sequenze geniche (PCR). L'isolamento colturale assai più tardivo ha un'indicazione prevalentemente epidemiologica;
- L'attività della metallo proteasi ADAMTS13 e/o la presenza di anticorpi AntiADAMTS13 indirizzano significativamente l'approccio terapeutico;
- La determinazione precoce e a titolo significativo di anticorpi anti fattore H del complemento, condiziona il trattamento intrapreso o da intraprendere;
- Sospettare una TMA pneumococcica in presenza di polmonite severa e richiedere pertanto il test di Coombs IgM. La sua positività controindica l'uso di componenti plasmatiche tradizionali. Tale condizione è stata segnalata anche in presenza di infezioni intestinali da Clostridium Difficile associate a TMA;



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

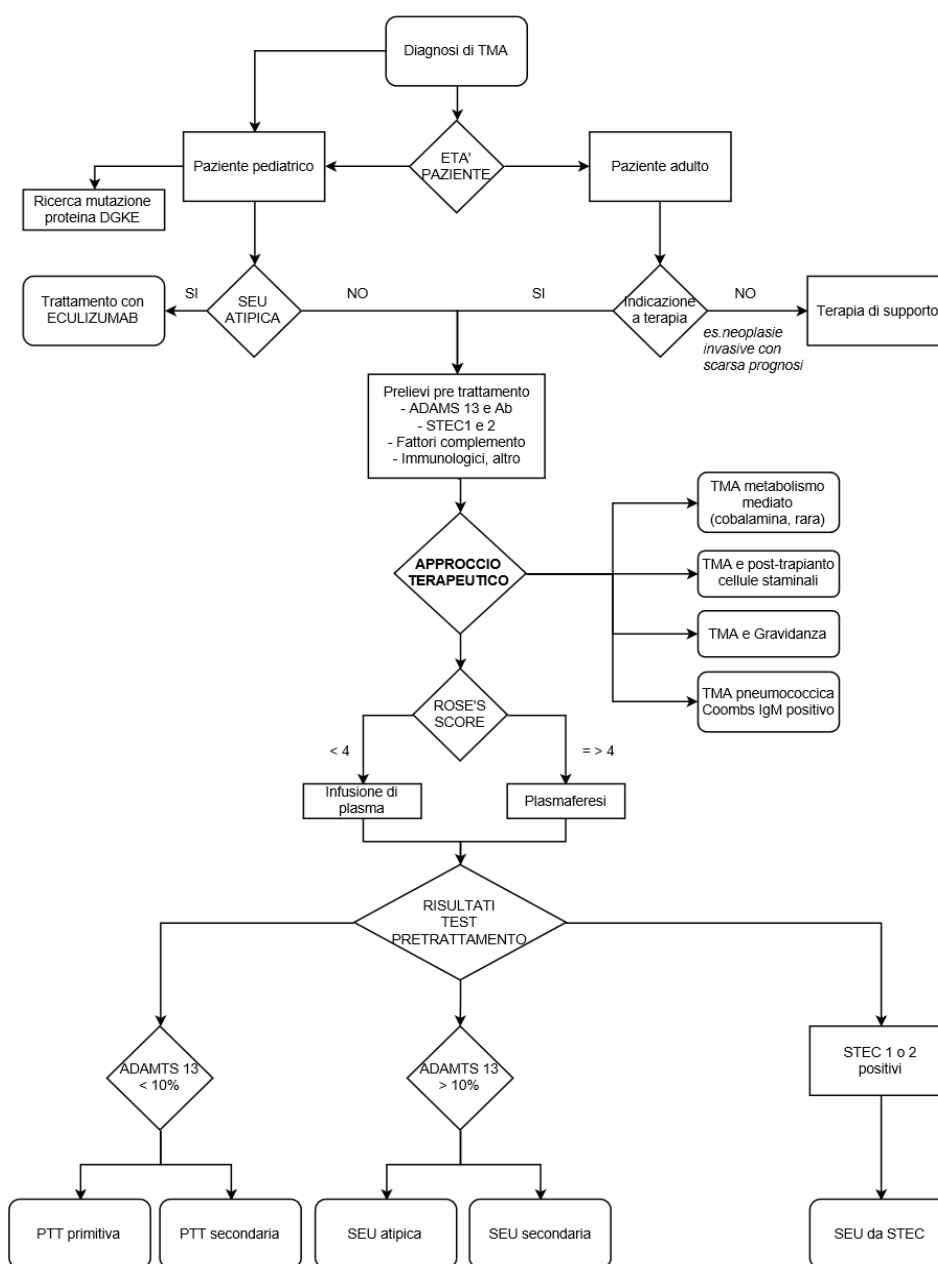
- Alcuni prelievi se non ritenuti utili per la diagnosi, possono essere congelati per eventuali ulteriori indagini o follow-up (Es. attività complementare totale CH50, altro);
- Il dosaggio dell'omocisteina sierica, inserito precocemente in questo documento è una riflessione emersa dalla possibilità di individuare precocemente la TMA associata a questa rarissima malattia, ma che può evitare approcci terapeutici molto impegnativi ed onerosi;
- L'iter diagnostico nel bambino non differisce da quello del paziente adulto, eccetto per la ricerca della mutazione DGKE proteina della famiglia delle kinasi dei lipidi espressa da endotelio, piastrine e podociti che è responsabile di una forma di SEU atipica (SEUa) ad esordio nel primo anno di vita.

APPROCCIO TERAPEUTICO

Effettuata la diagnosi di TMA l'approccio terapeutico è attualmente distinto per gli adulti e i pazienti pediatrici.

Il diagramma 1 fornisce uno schema utile per il clinico che si trovi ad aver a che fare con un paziente con diagnosi di TMA. I singoli punti descritti nello schema verranno trattati sommariamente in questo paragrafo.

Diagramma 1 – Diagnosi eziopatologica della causa di TMA ed approccio terapeutico





Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

La strutturazione di questo algoritmo fornisce un iter per giungere rapidamente ad una definizione del tipo di TMA e di conseguenza ad una terapia appropriata, tenendo in considerazione i seguenti punti principali:

- L'importanza di eseguire prelievi specifici pre trattamento
- Indicazioni o meno ad intervenire (es. neoplasie invasive con scarsa prognosi quoad vitam)
- Indicazioni sulla prognosi (score di gravità¹) e di conseguenza sulla rapida attivazione di procedure terapeutiche adeguate
- Indicazioni di approccio terapeutico per adulti o pazienti pediatrici

Pazienti pediatrici

L'iter diagnostico nel bambino non differisce da quello del paziente adulto, eccetto per la ricerca della mutazione DGKE proteina della famiglia delle chinasi dei lipidi espressa da endotelio, piastrine e podociti che è responsabile di una forma di SEU atipica (SEUa) ad esordio nel primo anno di vita.

Neanche la terapia (adeguata al peso ed alle dimensioni del paziente) per le forme congenite o acquisite di TTP, le forme secondarie a infezione pneumococcica/H1N1, STEC pos, le forme post trapianto di midollo o di altri organi e tessuti, o le altre forme secondarie, si discosta da quella del soggetto adulto a cui si rimanda.

In base alle attuali conoscenze, invece l'approccio alla sindrome emolitica uremica atipica in età pediatrica, proprio per la sua drammaticità di estrinsecazione ed evoluzione ha beneficiato in termini di risultati di interventi terapeutici di primo livello con farmaci biologici (eculizumab).

Il gruppo di lavoro internazionale sulla Sindrome Emolitica Uremica del bambino nella consensus conference tenutasi a febbraio 2014 ha elaborato una serie di indicazioni condivise per la gestione della SEUa in corso di stampa sulla rivista *Pediatric Nephrology* (An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children, Liorat C et al. *Pediatric Nephrology*) a cui si rifà questo documento proposto per la Regione Piemonte dalla SC Nefrologia Dialisi e Trapianto del PO Infantile Regina Margherita, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino che da molti anni è il centro di riferimento regionale per i bambini affetti da SEU.

Nell'allegato 1 a questo documento vengono discussi i seguenti punti:

1. Definizione di SEU atipica nell'età pediatrica
2. Diagnosi di SEU atipica (Esami di diagnostica del complemento, Ricerca degli anticorpi anti fattore H, screening di mutazioni geni del complemento)
3. Trattamento della SEU atipica (Indicazioni a plasmateresi, eculizumab, prevenzione del rischio di infezione meningococcica)
4. Indicazioni pratiche

Pazienti Adulti

La differenza sostanziale nell'approccio terapeutico alla TMA dell'adulto è dettata dalla maggiore possibilità che il soggetto possa presentare cause di secondarietà misconosciute che debbono essere ragionevolmente escluse e possibilmente risolte, eliminando pertanto il trigger microangiopatico, prima di intraprendere terapie ad alto impatto economico. Inoltre, in base alle attuali conoscenze eziopatogenetiche esiste tuttora una differenziazione di meccanismi scatenanti tra le principali forme di TMA che condizionano l'iter

¹ Teniamo a precisare che lo score di gravità (Rose's score) (Allegato 2), è uno dei pochi presente in letteratura, proposto nel 1987 e riferito ad uno studio retrospettivo sull'evoluzione della porpora trombotica trombocitopenica su 38 casi. È stato "ragionevolmente" adeguato, ma non ancora validato, e fornisce pertanto un'indicazione plausibile, che comunque deve sempre essere integrata dai dati clinici del momento.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

terapeutico, anche se dati della letteratura riconoscerrebbero nell'attivazione della via alterna del complemento, probabilmente dovuta ad una sua non corretta omeostasi genetica, uno dei preponderanti meccanismi responsabili del danno endoteliale.

Alla luce di queste considerazioni viene pertanto proposto, in attesa della determinazione di attività ADAMTS13, anticorpi antiADAMTS13, Shigatoxin 1 e 2, anticorpi anti fattori H del complemento ed esclusione di secondarietà o TMA a specifica eziologia, il trattamento con plasma (considerato gold standard in precedenza) le cui modalità possono essere indicativamente indirizzate in base alla gravità del quadro clinico, dallo score di Rose ([Allegato 2](#)).

Il razionale del trattamento con infusioni di plasma o plasmafresi delle TMA, seppure non del tutto definito, è tuttora la possibilità di correggere deficit di fattori plasmatici modulanti l'innescò della microangiopatia e/o rimuovere fattori plasmatici scatenanti. Questo tipo di trattamento in base ai dati della letteratura, riveste attualmente indicazione primaria in caso di porpora trombotica trombocitopenica, mentre ne è discusso l'impiego anche in termini di sopravvivenza d'organo nella SEU atipica, e confutato il razionale nelle SEU STEC positive.

Andremo ora ad analizzare le varie microangiopatie trombotiche

Deficit di proteasi ADAMTS13 - Porpora trombotica trombocitopenica (PTT)

Incidenza rara di circa quattro-sei casi per milione per anno, 90% di mortalità se non trattata. Stimata una mortalità del 50% nelle prime 24 ore dalla presentazione clinica acuta

Patogenesi

E' attualmente riconosciuto che sia le forme congenite che acquisite di PTT dipendono da un deficit di una metallo proteasi (ADAMTS13)(**ad**isintegrin and metallo **p**roteinase with a **th**rombospondin type1 motif, member 13) normalmente deputata al "clivaggio" a monomero dei multimeri di grosse dimensioni di fattore von Willebrand (VWF) presenti sull'endotelio vascolare o liberati in circolo. Questi multimeri non opportunamente rimaneggiati da ADAMTS13 causano aggregazione piastrinica spontanea con formazione di trombi a livello di microcircolo (cervello, cuore, rene).

Recenti dati indicherebbero inoltre che i multimeri di VWF sulle cellule endoteliali formano una superficie in grado di attivare la via alterna del complemento e questo potrebbe giustificare l'esistenza di PTT refrattarie al trattamento plasmafereutico (PEX) oppure l'esistenza di PTT "cliniche" con solo modesto o lieve deficit di ADAMTS13.

Attività ADAMTS13

Una ridotta attività di questa metallo proteasi (compresa fra il 5 ed il 40%) è riportata in molte condizioni cliniche diverse dalla PTT (stati infiammatori, gravidanza, post operatorio, neoplasie). Il cut-off di attività ADAMTS13 è assai dibattuto in letteratura, ma in base ai dati a disposizione possiamo ragionevolmente ritenere che attività < 5% siano fortemente indicative di PTT, attività < 10% molto sospette. Gli anticorpi inibitori dell'attività ADAMTS13 sono generalmente di tipo IgG.

Le PTT congenite riconoscono un deficit ereditario di ADAMTS13 (Upshaw-Schulman syndrome), le forme acquisite sono dovute ad una riduzione della sua attività provocata da anticorpi anti ADAMTS13. In presenza di severa riduzione dell'attività ADAMTS13 e assenza di anticorpi antiADAMTS13 occorre sospettare una forma congenita che potrà essere successivamente confermata con lo studio della/e mutazioni del gene codificante la metallo proteasi.

La PTT rimane tuttora una diagnosi basata sui dati anamnestici, sul quadro clinico e laboratoristico di TMA. Il dosaggio dell'attività ADAMTS13 e/o la presenza di anticorpi antiADAMTS13 permette di confermare la diagnosi, monitorarne il decorso e costituisce un possibile aiuto per terapie addizionali.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

Disregolazione del complemento

SEU Atipica (Congenita/Acquisita)

Microangiopatia trombotica caratterizzata da piastrinopenia, emolisi meccanica ed insufficienza renale acuta associata a severa ipertensione arteriosa e a multipli danni ischemici d'organo (cuore, intestino, polmone, pancreas, polmone, cervello, estremità) nel 20% dei casi.

Il rischio di dialisi e la mortalità sono elevati (33-40% al primo episodio)

Sempre approssimativamente nel 20% dei casi l'esordio è progressivo con anemia subclinica, piastrinopenia fluttuante e normofunzionalità renale associata ad anomalie orinarie anche minime (microematuria, proteinuria)

Si tratta di una malattia rara con incidenza annuale di circa 2 casi per milione nel soggetto adulto e 3.3 casi per milione in età pediatrica

Patogenesi

Un'alterazione genetica dell'omeostasi della via alterna del complemento è stata evidenziata in circa il 60% dei casi di SEU atipica, evidenziando mutazioni responsabili sia di iperattivazione diretta della via alterna del complemento (C3 e Fattore B), sia una carenza di inibitori della sua attività (Fattore H, Fattore I, MCP, Trombomodulina), sia la presenza di anticorpi anti inibitori di attivazione (anti fattore H) nelle forme definite acquisite. Per una trattazione esaustiva di queste complesse interazioni si rimanda ai dati bibliografici.

In sintesi:

- Il sistema complementare distribuito sia sulla superficie cellulare endoteliale che presente in circolo, gioca un ruolo fondamentale nel sistema di difesa immunitario e nel mantenimento dell'omeostasi tissutale finalizzato alla rimozione di cellule estranee o di cellule apoptotiche dell'ospite, tramite l'induzione di lisi cellulare, fagocitosi ed infiammazione.
- La via alterna del complemento possiede un elemento effettore comune su cui convergono tutte le vie di attivazione complementare, rappresentato dalla costante idrolisi del C3 (fattore B mediata) sempre attiva ma con meccanismo chiamato di tick-over (basso regime di attivazione). Questo meccanismo "quiescente" quando viene stimolato da cause esterne o interne dell'organismo porta tramite passaggi intermedi (generazione di C5a fortemente proinfiammatorio e C5b) alla produzione di effettori finali (membrane attack complex C5b-9) di lisi cellulare ed infiammazione.
- L'attivazione, la degradazione e l'adesione alla superficie cellulare del C3 attivato in condizioni normali è controllata da inibitori (Fattore H, Fattore I) e proteine di membrana (MCP, Trombomodulina)
- Alterazioni genetica funzionali di questi inibitori o delle proteine di membrana, anomalie indotte da autoanticorpi (anti Fattore H, fattore I), iperattività geneticamente determinate di fattore B o dello stesso C3 portano ad una disregolazione del fisiologico basso regime di attivazione predisponendo il soggetto ad aggressioni complementari incontrollate che possono essere scatenate ad esempio da cause infettive, ma anche attivarsi in altre condizioni.
- Il risultato finale è un importante danno endoteliale (su cui parti del complemento sono fisiologicamente presenti) con l'attivazione di adesione piastrinica e la formazione di microtrombi.

Il motivo per cui alterazioni genetica-funzionali nella SEU atipica siano stati evidenziati solo nel 60% dei casi è probabilmente attribuibile alla ancora attuale difficoltà di identificare tutti i complessi meccanismi ed interazioni che regolano l'attivazione complementare.

La diagnosi di SEU atipica inizialmente è una diagnosi di esclusione di TMA secondarie e di meccanismi patogenetici convolti (ADAMTS13 > 10%, Shiga-tossina 1 e 2,) condizionata da un maggior coinvolgimento renale. In particolari situazioni cliniche l'esecuzione di biopsia renale può essere molto utile nel condizionare l'approccio terapeutico con farmaci biologici



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

TMA Secondarie

Le TMA possono essere associate a svariate patologie o essere dovute a farmaci, esistono diverse segnalazioni in letteratura, ma è difficile poter definire la loro frequenza. Possono manifestarsi con un quadro evocante una Porpora trombotica trombocitopenica acquisita oppure una SEU atipica ed è sempre molto importante cercare di riconoscerle, perché la rimozione o cura della causa scatenante, dove possibile, è in grado in molti casi di evitare recidive o addirittura essere terapeutica, evitando soprattutto in presenza di SEU interventi con farmaci ad alto impatto economico.

In ogni caso, e se esistono le indicazioni ad un trattamento si consiglia un approccio clinico come da riferimento e successivo iter terapeutico in base a score di Rose (Allegato 2)

STEC-SEU/SEU diarrea

Rappresenta la forma più frequente di sindrome emolitico uremica con incidenza annuale di 2/100000 negli adulti e 6.1/100000 nei bambini con età inferiore a cinque anni. Può essere sporadica o epidemica. La mortalità nei paesi sviluppati con l'introduzione del trattamento dialitico e della terapia intensiva si è ridotta all'1-2%. Il 90% dei pazienti pediatrici guarisce dalla fase acuta. Metanalisi della letteratura riportano una prognosi a lungo termine condizionata da morte o insufficienza renale terminale nel 12% dei casi.

L'infezione responsabile della produzione di Shiga tossina 1 o 2 è classicamente dovuta ad un ceppo batterico di E. Coli 0157:H7 entero emorragico (ShigaToxin E.Coli= STEC), ma altri ceppi dello stesso batterio (E.Coli 0104:H4) e la stessa infezione da Shigella dysenteriae e flexneri (Asia, Africa) possono produrre tale tossina. Pertanto una diagnosi di STEC-HUS deve basarsi precocemente sull'identificazione delle shigatossine, l'isolamento del ceppo batterico seppure molto importante potrà essere utile soprattutto ai fini epidemiologici.

Patogenesi

Dopo l'ingestione di cibi o acqua contaminata o passaggio inter-umano, STEC favorisce la colonizzazione/adesione batterica della mucosa intestinale provocando distruzione del brush border dei villi intestinali con conseguente diarrea molto spesso ematica. Le shigatossine (STx), adese all'epitelio intestinale, raggiungono gli organi bersaglio con una traslocazione epiteliale non definita e successiva adesione principalmente ai neutrofili circolanti probabilmente tramite recettori glicolipidici (globotetrasilceramide). I neutrofili cedono successivamente la tossina alle cellule endoteliali per la loro elevata affinità recettoriale (globotriosilceramide). Questo legame innesca una reazione infiammatoria e procoagulativa mediata da P-selectina (chemiotassi neutrofili), interazioni con il fattore von Willebrandt (ritardo nel rimodellamento), attivazione della via alterna del complemento mediata da diversi fattori (P-selectina, trombomodulina) responsabile della formazione di microtrombi.

La densità di recettori endoteliali globotriosilceramidici è particolarmente elevata nel rene, cervello ed intestino.

Stx 2 sembrerebbe più virulenta di Stx 1.

Prodromi febbrili seguiti da Diarrea/Diarrea ematica, vomito, coma, crisi epilettiche, insufficienza renale acuta rappresentano la manifestazione clinica più classica.

TMA e GRAVIDANZA

Le TMA associate alla gravidanza sono classificate tra le forme secondarie e rappresentano dall'8 al 18% di tutti i casi di TMA, come risulta dai dati dei registri.

La gravidanza fisiologica può scatenare l'esordio o le recidive della TTP, prevalentemente nel II e III trimestre, attraverso due possibili meccanismi:



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- aumento progressivo del Fattore von Willebrand durante la gestazione, con aumento ed accumulo dei multimeri "ultralarge"
- riduzione fisiologica dell'attività dell'ADAMTS 13, non in grado di contrastare l'eventuale presenza di anticorpi inibitori.

Si riconoscono anche casi di deficit genetico di ADAMTS13

La SEU atipica che complica la gravidanza esordisce nel 75% dei casi nel periodo dopo il parto. Come per la SEU atipica extra gravidanza, riconosce come patogenesi una elevata incidenza di deficit genetico o acquisito dei fattori che regolano l'attivazione del complemento. In quasi il 50% vi è carenza del fattore H. L'insorgenza in puerperio è spiegata dal fatto che in corso di gravidanza il trofoblasto e il feto sintetizzano questi fattori e ne compensano il deficit materno. Dopo il parto l'attivazione del complemento dovuta a numerosi fattori (il parto stesso, infezioni, emorragia, ecc.) non è controbilanciata da un sistema regolatorio efficace.

Dal punto di vista diagnostico gli elementi caratteristici delle TMA -emolisi, piastrinopenia e danno ischemico d'organo per trombosi del microcircolo, possono essere riscontrati in altre patologie che possono complicare la gravidanza. Tra queste ricordiamo la riacutizzazione di LES, la sepsi (da cause ostetriche o altre), e le rarissime Sindrome catastrofica da anticorpi antifosfolipidi (CAPS) e Steatosi epatica acuta della gravidanza (AFLP).

Ma la più frequente complicanza della gravidanza che pone i maggiori problemi di diagnosi differenziale con TTP e aSEU è quella manifestazione della preeclampsia che va sotto il nome di sindrome HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, LowPlatelets) dove l'emolisi e la diminuzione delle piastrine come pure il danno epatico avvengono su base microtrombotica a partire dal danno endoteliale che caratterizza la preeclampsia.

TMA post trapianto di cellule staminali

La TMA post trapianto di cellule staminali (SCT) rappresenta una complicanza severa e di non facile identificazione, in quanto presenta aspetti comuni ad altre complicanze trapiantologiche.

In base alla stima effettuata dall'EBMT (European Society for Blood and Marrow Transplantation) la sua incidenza è di circa il 4% dopo trapianto autologo, mentre arriva al 15% dopo trapianto allogenico ed è poco influenzata dall'intensità del regime di condizionamento al trapianto (mieloablativo rispetto a ridotta intensità). La sua incidenza mediana è massima tra primo e secondo mese post SCT, ma sono descritti sia casi molto precoci (+4 giorni) e tardivi, fino a 2 anni dal trapianto.

La sua patogenesi sembra legata ad un danno endoteliale multifattoriale, e solo incidentalmente si associa ad un deficit di ADAMTS13, rappresentando pertanto un'entità a sé stante nell'ambito delle TMA.

Dopo il trapianto di cellule staminali le ragioni del danno endoteliale sono numerose:

- regime chemio-radioterapico di condizionamento al trapianto stesso: maggiormente implicati busulfano, fludarabina, cis e carboplatino e radioterapia, senza correlazione con dosaggi mieolablativi o ridotti
- infezioni: maggiormente implicati Aspergillus, citomegalovirus e adenovirus
- inibitori della calcineurina (ciclosporina e tacrolimus) e sirolimus (meno usato): entrambi i farmaci inducono un danno endoteliale citotossico diretto, oltre che danno ischemico relato alla vasocostrizione, con conseguente aggregazione piastrinica, aumento del fattore di vonWillebrand e trombomodulina, alterazione delle proteine del complemento e riduzione della produzione di ossido nitrico e prostaciline.
- Graft-versus-Host Disease (GVHD, malattia da trapianto verso l'ospite): l'associazione tra GVHD e TMA è particolarmente forte, e non è solo relata al possibile confondente del concomitante trattamento con inibitori della calcineurina. Al momento dell'attecchimento, infatti i linfociti T del donatore (responsabili della GVHD) incontrano le cellule endoteliali del ricevente potenzialmente



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

danneggiate, determinando un'attivazione immunitaria che scatena a sua volta il rilascio di ulteriori citochine ad effetto pro-infiammatorio e potenzialmente amplificatorio del danno

Recentemente, sono iniziati molti studi, soprattutto in ambito pediatrico, volti ad indagare il ruolo del complemento nella eziologia della TMA post-SCT. L'autoimmunità rientra tra le possibili complicanze post-trapianto pertanto si possono generare autoanticorpi contro il fattore H del complemento (CFH) in risposta a genotipi CFH differenti tra donatore e ricevente, come suggerito dal fatto che tali autoanticorpi si sono riscontrati dopo SCT allogenico ma non autologo.

TMA post trapianto di rene

La TMA post trapianto di rene presenta degli elementi di base che la distinguono dalle forme che colpiscono i reni nativi.

Difficoltà nella definizione di severità in base allo score di Rose

Tale score, utilizzato nella definizione del grado di severità di una TMA sui reni nativi, non appare applicabile nei casi in corso di trapianto di rene, in quanto la funzione renale del graft può di per se influenzare i livelli di emoglobina e creatinina, così come la terapia immunodepressiva è in grado di alterare in maniera significativa pressoché tutti i parametri in esame in maniera indipendente dalla gravità della malattia. Per tale motivo l'indicazione alla terapia va valutata sulla base delle caratteristiche della malattia nel singolo paziente, come riportato specificamente all'interno di ogni paragrafo.

Problematiche aggiuntive nella diagnostica differenziale

A differenza di quanto accade sui reni nativi, la diagnostica della TMA sul trapianto è complicata dalla presenza di patologie peculiari, quali in particolare il rigetto anticorpo mediato acuto e cronico (AMBR), che possono mimare, coesistere o complicarsi con una TMA; in tali condizioni anche la biopsia renale, gold standard per la conferma diagnostica sui casi dubbi nei reni nativi, può non essere dirimente. Per tale motivo in taluni casi con comportamento severo e diagnosi dubbia va considerata la possibilità di un trattamento "ex juvantibus" della TMA valutando attentamente il rapporto rischio-beneficio per il singolo paziente in esame.

Deficit di Cobalamina C

Difetto ereditario raro nei bambini ed ancora più raro negli adulti clinicamente associato nella sua massima espressione genica ad epilessia, ritardo di crescita, microcefalia, ipotonia.

L'esordio nell'adulto può essere condizionato da manifestazioni neurologiche come atassia, psicosi, deterioramento cognitivo. Il deficit di cobalamina C può manifestarsi anche come SEU isolata in età pediatrica e recentemente è stato riportato un caso in un paziente adulto.

L'interesse a questa rarissima forma di TMA ad estrinsecazione SEU prevalente è legata principalmente al fatto che con l'esecuzione di un esame ematochimico di basso costo (omocisteinemia) e la sua conseguente diagnosi, si possono evitare diagnosi errate di SEU atipica e conseguenti terapie assai impegnative o impiego con scarso risultato di farmaci biologici ad alto impatto economico.

Patogenesi

Dovuta ad una mutazione genetica (MMACHC gene) che esprime una proteina cobalamina C correlata in grado di condizionare nelle cellule dei mammiferi la conversione di omocisteina a metionina e di L-Metilmalonil-CoA a succinil-CoA

I markers biologici finali sono elevati livelli di omocisteinemia (> 10 volte) e di aciduria metilmalonica.

Elevati livelli di omocisteinemia possono indurre danno endoteliale, alterazione dell'inibizione dell'aggregazione piastrinica o condizioni locali di procoagulazione che inducono alla formazione di microtrombi.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

TMA Pneumococcica

L'infezione da Streptococco pneumoniae (Sp) è responsabile nei bambini del 5-15% di TMA con aspetti SEU prevalenti, in assenza di diarrea e a volte misconosciuta per presenza di coagulazione intravascolare disseminata secondaria a sepsi.

La SpSEU può presentarsi anche nel paziente adulto.

La maggior parte dei pazienti con SpSEU presentano polmonite con o senza pleurite associata, una minoranza di casi meningite o entrambi.

Mortalità 2-12%, soprattutto nei casi con meningite.

Patogenesi

Una delle teorie più accettate è incentrata sul ruolo delle neuroaminidasi batteriche il cui lavoro di "clivaggio" dell'acido N-acetilneuraminico dalle glicoproteine della superficie cellulare (globuli rossi, piastrine, epatociti, endotelio glomerulare) esporrebbe l'antigene di Thomsen-Friedenreich (normalmente nascosto) all'interazione con immunoglobuline IgM preformate normalmente esistenti nel plasma circolante. Il risultato sarebbe una poliagglutinazione associata ad emolisi e danno endoteliale con formazione di microtrombi.

È però riconosciuto che le IgM sono anticorpi "cold-reacting" e non sono in grado di attivare lisi complementare.

Recentemente si sostiene che il sito del legame del fattore H (inibitore dell'attività C3 convertasi complementare) venga danneggiato dalle neuraminidasi batteriche, o che il fattore H venga direttamente inibito da proteine espresse da Sp, permettendo un'attivazione complementare incontrollata e il successivo danno endoteliale.

Infezioni da Clostridio perfringens e Difficili possono essere responsabili di SEU e si sospetta un ruolo patogenetico svolto delle neuraminidasi batteriche.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

3 BIBLIOGRAFIA

- Alasfar S e Alachkar N. Atypical hemolytic uremic syndrome post-kidney transplantation: two case reports and review of the literature. *Front Med (Lausanne)* 2014; 1:52-56.
- Appenzeller S et al. HELLP syndrome and its relationship with Antiphospholipid syndrome and Antiphospholipid Antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 2011; 41:517-523.
- Al-Nouri et al: Drug induced thrombotic microangiopathy: A systematic review of published reports. *Blood*. 2015; 125: 616-618.
- Ariceta G et al: European Paediatric Study Group for HUS (2009) Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009; 24:687-696.
- Ariceta G et al: Eculizumab in the treatment of atypical hemolytic uremic syndrome in infants. *Am J Kidney Dis* 2010; 59:707-710.
- Ardissino G et al: Skin involvement in atypical hemolytic uremic syndrome *Am J Kidney Dis* 2013; 63:652-655.
- Ardissino G et al: Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: A report of 10 cases. *Am J Kidney Dis*. 2014; 64:633-637.
- Ardissino G et al: Hemoconcentration: a major risk factor for neurological involvement in haemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2015 ;30: 345-352.
- Barbour T. et al: Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Jul;27:2673-81.
- Békássy ZD et al: Eculizumab in an anephric patient with atypical haemolytic uraemic syndrome and advanced vascular lesions. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28:2899-2907.
- Besbas N et al: European Paediatric Research Group for HUS (2006) A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int* 2006; 70:423-431.
- Beye F et al: Eculizumab: effectiveness of a shortened dosing schedule in the treatment of atypical haemolytic uremic syndrome of unknown origin. *Therapie* 2013; 68:119-122.
- Blombery P, Scully M: Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: current perspectives. *Journal of Blood Med* 2014; 5:15-23.
- Bresin E et al: European Working Party on Complement Genetics in Renal Diseases. Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24:475-78.
- Cataland SR and Wu HM: How I treat: the clinical differentiation and initial treatment of adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2014 Apr 17;123:2478-84.
- Ciantar E and Walker JJ: Pre-eclampsia, severe pre-eclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets syndrome: what is new? *Women's Health* 2011; 7 : 555-69.
- Cornec Le Galle E et al: Adult-onset Eculizumab resistant Hemolytic uremic syndrome associated with cobalamin C deficiency. *Am J Kidney Dis*. 2014 ;63:119-231.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- Cugno M et al: Complement Functional Tests For Monitoring Eculizumab Treatment In Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Thromb Haemost* 2014; 12: 1440-8.
- Danzinger-Isakov L et al: Vaccination in Solid Organ Transplantation. *Am J Transpl* 2013; 13: 311-317.
- De Fontbrune et al: Use of Eculizumab in Patients With Allogeneic Stem Cell Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy: A Study From the SFGM-TC. Transplantation. 2015 Feb 3. In press.
- Delmas Y et al: Outbreak of Escherichia Coli 0104:H4 hemolytic uremic syndrome in France: outcome with eculizumab. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 ;29:565-72.
- Egerman RS, Sibai BM: HELLP Syndrome. *Clin Obstet Gynaecol* 1999; 42: 381-89 Fakhouri F et al: Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:859-867.
- Espié E et al Surveillance of hemolytic uremic syndrome in children less than 15 years of age, a system to monitor O157 and non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli infections in France, 1996-2006. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27:595-601.
- Fakhouri F et al: Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:859-867.
- Fakhouri F et al: AKI and Thrombotic Microangiopathies in Pregnancy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7 :2100-2116.
- Fakhouri F et al: Atypical hemolytic uremic syndrome: From rediscovery of complement to targeted therapy. *Europ J Int Med* 2013;24:492-495.
- Fakhouri 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; 63:40-8 .
- Fremeaux-Bacchi V et al: Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 554-562.
- Geerdink LM et al: Atypical hemolytic uremic syndrome in children: complement mutations and clinical characteristics. *Pediatr Nephrol* 2012; 27:1283-1291.
- George JN and Nester CM: Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*. 2014 Aug 14;371:654-66.
- George JN and Al Nouri ZL: Diagnostic and therapeutic challenges in the thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:604-9.
- Gulleroglu K et al: Neurologic involvement in atypical hemolytic uremic syndrome and successful treatment with eculizumab. *Pediatr Nephrol* 2013; 28:827-830.
- Hillmen P et al: Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2013; 162:62-73.
- Hofer J et al: Extra renal manifestations of complement mediated thrombotic microangiopathies. *Front Pediatr*. 2014; 2:971.
- Hu H et al: Eculizumab in atypical haemolytic uraemic syndrome with severe cardiac and neurological involvement. *Pediatr Nephrol* 2013; 29:1103-1106.
- Jodele S et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: a study in children and young adults. *Blood*. 2014; 124: 645-53.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- Jodele S et al. . A new paradigm: Diagnosis and management of HSCT-associated thrombotic microangiopathy as multi-system endothelial injury. *Blood Rev.* 2014 Nov 28. pii: S02
- Kanavagh D et al: Atypical Hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33:508-530.
- Keating GM: Eculizumab: a review of its use in atypical hemolytic uremic syndrome. *Drugs* 2013;73:2053-2066.
- Keir LS et al: Shigatoxin associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanism and future therapies. *Drug Design, Development and therapy* 2012; 6: 195-208.
- Kömhoff M et al: Combined pulmonary hypertension and renal thrombotic microangiopathy in cobalamin C deficiency. *Pediatrics* 2013; 132:540-544.
- Krid S et al. Renal Transplantation Under Prophylactic Eculizumab in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome With CFH/CFHR1 Hybrid Protein. *Am J Transplant* 2012; 12: 1938–1944.
- Larry A et al: Atypical Hemolytic uremic syndrome. *Advances in pediatrics* 2014;61: 335-356.
- Laskin BL et al. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood.* 2011;118:1452-62
- Lechner K and Obermeier HL. Cancer-related microangiopathic hemolytic uremia: clinical and laboratory features in 168 reported cases: *Medicine* 2012; 4:195-205.
- Legendre CM et al: Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368:2169-2181.
- Lemaire M et al: Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet* 2013; 45:531-536.
- Licht C et al: Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2 years extensions of phase 2 study. *Kidney Int.* Int. 2015. In press.
- Loirat C and Fremeaux-Bacchi V: Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet Journal of rare disease* 2011;6:1-30.
- Loirat C et al: Thrombotic thrombocytopenic purpura in children. *Curr Opin Pediatr* 2013; 25:216-224.
- Loirat C, Fremeaux-Bacchi V: Anti-factor H autoantibody-associated haemolytic uremic syndrome: the earlier diagnosed and treated, the better. *Kidney Int* 2014; 85:1019-1022.
- Loupiac A et al: Diagnosis of streptococco pneumoniae associated hemolytic uremic syndrome. *Ped Infect Disease* 2013; 10:1045-1049.
- Malina M et al: Peripheral gangrene in children with atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics* 2013; 131: 331-335.
- Matar et al. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Recurrence After Kidney Transplantation. *Transplantation* 2014; 98: 1205-1212.
- Mele C et al: Hemolytic uremic syndrome. *Semin Immunopathol* 2014; 36: 399-420.
- Menne J et al: Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ* 2012; 345: 465-68.
- Moatti-Cohen et al: The French Reference Center for ThromboticMicroangiopathies Best Practice <http://www.nephromeet.com>



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- Nester C et al. Pre-emptive Eculizumab and Plasmapheresis for Renal Transplant in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 16: 1488–1494
- Nester C et al: Atypical aHUS: State of the art. *Mol Immunol* 2015. In press
- NICE Clinical Guidelines: Hypertension in pregnancy: the management of hypertensive disorders during pregnancy. August 2010
- Nishimura J et al: Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *N Engl J Med* 2014; 370:632-639
- Noris M and Remuzzi G: Atypical hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 361:1676-1687
- Noris M et al. : Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:1844-1859
- Noris M e Remuzzi G. Managing and preventing atypical hemolytic uremic syndrome recurrence after kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22 : 704-12.
- Noris M and Remuzzi G. Cardiovascular complications in atypical haemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10 :174-80.
- Parikova et al. Living-donor kidney transplantation for atypical haemolytic uremic syndrome with pre-emptive eculizumab use. *Transpl Int* 2015; 28: 366-369.
- Pelicano MB et al. Anti-C5 as Prophylactic Therapy in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Living-Related Kidney Transplantation. *Transplantation* 2013; 96: 26-29.
- Pieringer H et al. Transient hemolytic anemia after kidney transplantation and thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to plasma exchange and rituximab. *Ren Fail* 2009; 31: 419-20.
- Quaggin SE: DGKE and atypical HUS. *Nat Genet* 2013; 45:475-476
- Rahai EA et al: Escherichia Coli 0157:H7 Clinical aspects and novel treatment approaches. *Front cell Infect Microbiol* 2012; 2: 1-7.
- Ranch D et al. Prophylactic eculizumab for kidney transplantation in a child with atypical hemolytic uremic syndrome due to complement factor H mutation. *Pediatr Transplant* 2014; 18: E185–E189.
- Rathbone J et al: A systematic review of eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) *BMJ Open.* 2013 Nov 4;3 :e003573.
- Rose M et al: High incidence of relapses in thrombotic thrombocytopenic purpura. Clinical study in 38 patients. *Am J Med.* 1987 ;83:437-44.
- Rosove MH: Thrombotic microangiopathies. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Jun;43:797-805
- Salem G et al: Profound neurological injury in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome. *Ann Hematol* 2013; 92:557-558
- Sarig G: ADAMTS13 in the diagnosis and management of thrombotic microangiopathies. *Rambam Maimonides Med J.* 2014; 5:1-15.
- Scully M et al: Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Brit J Haematol* 2012; 158:323-335.
- Sellier-Leclerc AL et al: Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:2392-2400
- Sibai BM: Imitators of severe Preeclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33 :196-205



REGIONE
PIEMONTE

Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- Sinha A et al: Prompt plasma exchanges and immunosuppressive treatment improves the outcomes of anti-factor H autoantibody associated hemolytic uremic syndrome in children. *Kidney Int* 201;85:1151-1160
- Spinale JM et al: Update on Streptococco Pneumonia associated hemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Pediatr.* 2013 ;25:203-8.
- Ståhl AL et al: Factor H dysfunction in patients with atypical hemolytic uremic syndrome contributes to complement deposition on platelets and their activation. *Blood* 2008; 111:5307-5315
- Stella.CL et al: The diagnostic dilemma of TTP/HUS in the obstetric triage and emergency department: lessons from 4 tertiary hospitals. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 381-394.
- The 2012 revised edition of the EBMT-ESH. Handbook on Haemopoietic Stem Cell Transplantation Editors: J. Apperley, E. Carreras, E. Gluckman, T. Masszi
- Trachtman H et al: Renal and neurological involvement in typical Shiga toxin associate HUS. *Nat.Rev. Nephrol* 2012; 8: 658-669
- Tran H et al, Use of eculizumab and plasma exchange in successful combined liver-kidney transplantation in a case of atypical HUS associated with complement. *Pediatr Nephrol* 2014; 29: 477-480.
- Turner N et al: Thrombotic microangiopathies and the linkage between von Willebrand Factor and the alternate complement pathway. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:544-550.
- Ullrich S et al: Symptoms and clinical course of EHEC 0104 infection in hospitalized patients: a prospective single center study. *PLoS One.* 2013;8 :e55278.
- Watson R et al: Standardisation of the factor H autoantibody assay. *Immunobiology* 2014; 219:9-16
- Weitz M et al. Prophylactic eculizumab prior to kidney transplantation for atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 1325-1329.
- Westland R et al: Phenotypic Expansion of DGKE-Associated Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2014 Feb 7. 170-75
- Wong EKS et al: Complement therapy in atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol* 2013;56:199-212
- Woudstra DM et al: Corticosteroids for HELLP syndrome in pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 20101.
- Yagi H et al: Paradigm shift of childhood thrombotic thrombocytopenic purpura with severe ADAMTS13 deficiency. *Presse Med* 2012; 41: 137-155
- Zaidi MB and Estrada-Garcia T: Shigella: A highly virulent and elusive pathogen. *Curr Trop Med Rep.* 2014 ;1:81-87.
- Zhanga B et al: Renal thrombotic microangiopathies induced by severe hypertension. *Hypertension Res* 2008; 31:479-483.
- Zimmerhackl LB et al. Prophylactic Eculizumab after Renal Transplantation in Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome. *N Engl J Med* 2010; 362:1746-1748.
- Zuber J et al. Eculizumab for Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Recurrence in Renal Transplantation. *Am J Transplant* 2012;12: 3337-3354.
- Zuber J et al. Targeted strategies in the prevention and management of atypical HUS recurrence after kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2013; 27: 117-125.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

4 REDAZIONE DEL DOCUMENTO

Coordinatori:

Dr. Basolo B., Dr. Bazzan M., Prof. Roccatello D.

Estensori del documento

- TMA nel paziente pediatrico: Dr.ssa Peruzzi L.
- TMA nel paziente adulto: Dr. Basolo B.
- TMA e gravidanza: Dr.ssa Donvito V.
- TMA post trapianto renale: Dr. Mella A, Dr.ssa Messina M, Dr.ssa Tognarelli G, Dr.ssa Rossetti M. e Prof. Biancone L.
- TMA post trapianto cellule staminali: Dr. Bruno B, Dr.ssa Giaccone L.

Partecipanti al gruppo tecnico:

- ALBA: Dr. Campo A., Dr. Iannini R., Dr. Viglino G.
- ALESSANDRIA: Dr.ssa Contino L., Dr. Guaschino R, Dr. Manganaro M., Dr. Semino G., Dr. Tridico F., Dr. Vaniglia F.
- AOSTA: Dr. Manes M., Dr. Nebiolo PE, Dr.ssa Pellu V.
- ASTI: Dr.ssa Randone O., Dr. Scuvera E.
- BIELLA: Dr. Marasco G.
- CHIVASSO: Dr. Martina G.
- CUNEO: Dr. Formica M., Dr.ssa Gianti A., Dr. Marazzi F., Dr. Marenchino D., Dr.ssa Marengo M., Dr. Pacitti A., Dr.ssa Tamagnone M., Dr. Testa D.
- IVREA: Dr.ssa Chianese R., Dr.ssa Delios G., Dr. Freilone R., Dr.ssa Giacchino F.
- NOVARA: Dr. Camisasca G., Dr.ssa Monzani A., Dr. Quaglia M., Prof. Stratta P.
- NOVI LIGURE: Dr. DellaVolpe M.
- ORBASSANO (S.Luigi): Dr. Ottone P., Dr Saglio G., Dr.ssa Zecchina G.
- PINEROLO: Dr. Marciello A.
- TORINO:
 - Osp. MARTINI: Dr. Boero R.
 - Osp. MAURIZIANO: Dr.ssa Beggiate E., Dr.ssa Bertero MT., Dr.ssa Marcuccio C., Dr.ssa Montaruli B., Dr.ssa Sivera P., Dr- Tamponi G.
 - ASO Città della Salute e della Scienza di Torino
 - PRESIDIO MOLINETTE: Dr.ssa Aydin S., Dr.ssa Azzolina MC., Dr. Besso L., Prof. Biancone L., Prof. Boccadoro M., Dr.ssa Bonino L., Dr.ssa Bordiga AM., Dr. Bruno B, Dr.ssa Colla L., Dr.ssa Francisci T., Dr. Fusaro E., Dr.ssa Gariboldi A., Dr.ssa Giaccone L., Dr Mengozzi G., Dr.ssa Muccini E., Dr.ssa Schinco PC., Dr. Tassi W., Dr.ssa Tognarelli G., Dr.ssa Valpreda A.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- PRESIDIO OIRM- SANT'ANNA: Dr. Albiano R., Dr.ssa Coppo R., Dr.ssa Donvito V., Dr. Pagliarino M., Dr.ssa Peruzzi L., Dr. Pollio B., Dr Sini B.
- Osp. S. GIOVANNI BOSCO: Dr Aprà F., Dr. Basolo B., Dr. Bazzan M., Dr.sa Cabodi D., Dr.ssa Converso M., Dr.ssa Di Simone D., Dr.ssa Giustetto D., Dr. Milan M., Prof Roccatello D., Dr. Quattrocchio G., Dr.ssa Solfietti L., Dr.ssa Stella L.
- VERBANIA: Dr. Cerutti P., Dr. Mari R.
- VERCELLI: Dr.ssa Costantini L.

5. AGGIORNAMENTI

Gli aggiornamenti periodici e ulteriori allegati esplicativi della raccomandazione saranno resi disponibili sul portale della rete interregionale per le malattie rare del Piemonte e della Valle d'Aosta - <http://www.malattierapiemonte.it>



6 ALLEGATI

Allegato 1: il paziente pediatrico

PREMESSE

Negli ultimi 10 anni è stato chiaramente dimostrato che la SEU atipica è una patologia della via alterna del complemento nel 60-70% dei casi.

La SEU viene definita atipica quando non vi è presenza di altra patologia o possibile causa associata.

La terapia con plasma è stata fino al 2009 il cardine del trattamento della SEUa anche in assenza di dati basati su studi controllati; la plasmateresi era suggerita come strumento per offrire lo scambio di grandi volumi di plasma pur con non trascurabili effetti collaterali.

Oggi il protocollo di trattamento della SEUa tiene conto dei dati derivati da esperienze singole incluse quelle nel trapianto renale e combinato rene e fegato e da alcuni trial controllati già conclusi.

DEFINIZIONE DI SEU ATIPICA

La classificazione delle forme diverse di microangiopatia trombotica è basata sul meccanismo fisiopatologico.

Anche per l'età pediatrica si è giunti ad un consenso nel definire come SEUa la SEU senza altra patologia coesistente, escludendo anche le forme secondarie.

La porpora trombotica trombocitopenica (TTP) è dovuta ad un deficit di attività (<10%) di ADAMTS13 per assenza della proteina funzionale o per la presenza di anticorpi anti- ADAMTS13. Questa forma deve essere esclusa all'inizio del percorso diagnostico, così come la SEU secondaria ad infezione da *Escherichia coli* produttori di citotossina (STEC).

DIAGNOSI DI SEU ATIPICA

1. Test biologici per confermare la diagnosi clinica di SEUa. Nel bambino la presentazione clinica con infezione da *Streptococcus pneumoniae*, TTP, SEU secondaria a diarrea o da deficit di Cobalamina C (Cbl) rende la diagnosi differenziale facile e consente l'avvio tempestivo del trattamento giusto.

Test di conferma sono necessari:

- **ATTIVITA' ADAMTS13:** valuta il clivaggio del fattore von Willebrand (VWF) da parte di ADAMTS13 e del peptide (Fret-VWF 73). È un test che fornisce l'esito in poche ore.
- **RICERCA TOSSINA STEC (amplificazione genomica):** è necessaria in tutti i bambini con SEU perché in oltre il 30% dei casi di SEUa del bambino la diarrea o la gastroenterite sono stati il trigger che ha scatenato la malattia.
- **DEFICIT DI Cbl-C:** è necessario che venga escluso nei casi di sospetto clinico di SEUa nel bambino. Sono segnalati anche casi ad esordio in età adulta. Questi casi beneficiano del trattamento con idrossicobalamina.

In Piemonte il dosaggio della Cbl-C può essere eseguito presso Laboratorio di biochimica Clinica dell'AOU Città della Salute e della Scienza di Torino.

2. Esami di diagnostica del complemento: 60-70% dei casi di SEUa sono dovuti a mutazioni di geni codificanti per proteine della cascata del complemento o ad anticorpi anti fattore H del complemento (CFH) con perdita della protezione dall'attacco del complemento sull'endotelio e sulle piastrine e sviluppo di microangiopatia trombotica.

Familiarità è presente solo nel 20-30% dei casi.

Recentemente è stata descritta una forma di SEUa ad esordio nel primo anno di vita dovuta a mutazioni di DGKE, una proteina della famiglia delle chinasi dei lipidi espressa da endotelio, piastrine e podociti. Il meccanismo patogenetico è verosimilmente dovuto a attivazione della protein Kinasi C con up regolazione di fattori protrombotici e attivazione delle piastrine. Non è ancora chiaro se e come viene coinvolto il complemento in queste forme ma è stata dimostrata una riduzione del C3 in 3 casi sui 15 descritti.

- **LIVELLI PLASMATICI NORMALI DI C3, C4, CFH e CFI NON ESCLUDONO LA DIAGNOSI DI SEU DA PATOLOGIA DEL COMPLEMENTO.**



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- Riduzione dei livelli di C3 sono osservati solo nel 30-40% dei pazienti con SEUa pertanto livelli normali di C3 non escludono una SEUa.
 - Una riduzione del C3, o la riduzione del fattore B (CFB) confermano l'attivazione della via alterna del complemento
 - La riduzione dei livelli plasmatici del fattore H (CFH) o del fattore I (CFI) si osservano rispettivamente nel 50% e nel 30% dei pazienti con mutazioni dei geni codificanti per CFH o CFI. Quindi livelli plasmatici normali di CFH o CFI non escludono una mutazione del corrispondente gene.
 - Dati recenti dimostrano che i livelli di C5a e di C5b-9 solubile (sC5b-9) sono elevati nella fase acuta della SEUa e possono essere marker utili per differenziare la SEUa dalla TTP.
 - Il dosaggio di C5b-9 è in fase di messa a punto in alcuni laboratori e sia i risultati che la metodica da impiegare rimangono al momento ancora assai controversi.
3. **Ricerca di anticorpi anti fattore H:** In tutti i pazienti con sospetto di SEUa è necessaria la ricerca di anticorpi anti fattore H in un campione di sangue o plasma pre-infusione di plasma o pre-plasmaferesi. Un consorzio di 7 laboratori europei ha partecipato alla standardizzazione della tecnica ELISA per il dosaggio di questi anticorpi con programma estendibile ad altri paesi. I risultati sono di aiuto per la scelta terapeutica. Anticorpi anti-CFH ad alto titolo (1000 to 50000 Arbitrary Units (AU)/ml (soglia positiva 100-140 AU/ml) in fase acuta sono inversamente correlate con i livelli di C3. Il dosaggio degli anticorpi anti CFH può essere concordato ed eseguito presso Istituto Mario Negri di Bergamo.
4. **Screening genetico:** Lo screening genetico è raccomandabile in tutti i bambini con sospetto clinico di SEUa ma non è necessario nell'immediato ai fini delle scelte terapeutiche.
- a. I 6 geni che determinano la suscettibilità alla SEUa (CFH, CFI, MCP, C3, CFB, trombomodulina (THBD)) è consigliabile che siano studiati mediante sequenziamento diretto. Nel 3-12% dei casi si trovano mutazioni combinate.
 - b. La multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) è necessaria per identificare geni CFH ibridi (5 % dei soggetti) e per variazioni del numero di copie del gene (copy number variations) nei CFH e CFH correlati (CFHRs).
 - c. Lo screening per mutazioni di DGKE è consigliabile nei bambini con SEUa con esordio nel 1°-2° anno di vita.
 - d. Sono stati riportati casi di soggetti che avevano anticorpi anti fattore H associate a mutazioni di geni del complemento. Al momento quindi l'indagine genetica è consigliabile anche in questi casi.
 - e. La next generation sequencing (NGS) rende le analisi genetiche più rapide e meno costose

TERAPIA DELLA SEU ATIPICA

1. **Plasmaferesi:** La plasmaferesi nel bambino piccoloriciede il posizionamento di un catetere venoso centrale con rischio di complicanze emorragiche, infettive o trombotiche in una elevata percentuale di casi (oltre il 30% secondo alcune casistiche) oltre ad una expertise disponibile in pochissimi centri. In letteratura sono presenti case report di beneficio immediato della plasmaferesi intensiva in bambini con mutazioni di CFH ma con evoluzione in insufficienza renale cronica entro 3 anni. Anche nei casi di SEUa da DGKE il beneficio della plasmaferesi è incerto. Nella Regione Piemonte il trattamento con plasmaferesi è disponibile per bambini di tutte le età a partire dai primi mesi di vita presso il Centro Immunotrasfusionale del Presidio Ospedale Infantile Regina Margherita della AOU Città della Salute e della Scienza di Torino.
2. **Eculizumab:** Eculizumab, anticorpo monoclonale umanizzato contro il C5, impedisce il clivaggio del C5 e la formazione di C5a e C5b-9, bloccando sia l'attività proinfiammatoria del C5a che l'attività protrombotica derivante dall'attivazione del complesso d'attacco C5b-9. Al momento sono stati pubblicati oltre 200 casi trattati con eculizumab e sono in corso diversi trial prospettici di trattamento nella SEUa sia del bambino che dell'adulto.
- a. **Dati derivanti dai trial già conclusi e da case reports pubblicati:** 4 trial prospettici hanno dimostrato l'efficacia dell'eculizumab nell'interrompere il processo di microangiopatia trombotica, inducendo la remissione della SEUa e il miglioramento o il mantenimento della funzione renale nella maggior parte dei pazienti.
 - i. Nei trial in cui erano stati arruolati sia bambini che adulti i risultati nei bambini sono stati nettamente migliori: in questi casi era stato iniziato precocemente l'eculizumab



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

senza insistere con la plasmaferesi/plasmainfusione. Meningite da *Neisseria Meningitidis* è stata osservata in 2 casi sui 100 arruolati e non si sono osservati altri eventi avversi.

- ii. I dati dai case reports disponibili in letteratura sono concordi con quelli ottenuti dai trial controllati: nel bambino i casi evoluti in insufficienza renale cronica sono nettamente inferiori fra i trattati con eculizumab rispetto a quelli trattati con la sola plasmaferesi/plasma infusione e l'andamento migliore è stato osservato in quelli che hanno ricevuto precocemente il trattamento (entro la prima settimana dall'esordio della malattia).
- iii. L'eculizumab nei casi riportati sinora non è risultato efficace nei casi in cui è stata riscontrata una mutazione di DGKE.

b. Prevenzione dell'infezione da Meningococco durante la terapia con eculizumab:

L'immunità contro l'infezione da *Neisseria meningitis* è prevalentemente mediata dal complesso d'attacco del complemento C5b-9 ed è dimostrato che soggetti con deficit completo dei fattori del complesso d'attacco hanno un rischio di meningite 5000 volte superiore rispetto alla popolazione generale. La prevenzione dell'infezione è quindi raccomandabile nei pazienti in terapia con Eculizumab attraverso la vaccinazione o la profilassi antibiotica.

Il vaccino tetravalente coniugato protegge contro i sierogruppi A, C, W135 e Y ma non contro il sierogruppo B che è il serotipo prevalente nei paesi europei, Nord America, Australia e Nuova Zelanda. Dal 2014 anche in Italia è disponibile il vaccino anti serotipo B quindi è consigliabile eseguire la vaccinazione con entrambi i vaccini prima della terapia, come viene richiesto dalla scheda AIFA da allegare all'ordine del farmaco. Qualora vi siano controindicazioni cliniche alla vaccinazione deve essere avviata la profilassi antibiotica continuativa per tutta la durata del trattamento con eculizumab.

Nonostante la vaccinazione i dati sui pazienti trattati con Eculizumab per emoglobinuria parossistica notturna mostrano una incidenza di meningite di 0.5/100 pazienti/anno mentre i dati reali sui pazienti trattati per SEUa al di fuori dei trial controllati non sono disponibili.

Anche la profilassi non assicura una protezione totale quindi è importante l'istruzione dei pazienti e dei curanti e la sensibilizzazione ai segni e sintomi della meningite.

A) INDICAZIONI PRATICHE

- a) Trattamento di prima linea nel bambino con diagnosi clinica di SEU atipica:** Il Consensus Europeo sulla SEU nel bambino propone l'Eculizumab come primo trattamento nei casi di SEUa, per evitare la plasmaferesi e le complicanze legate al posizionamento e alla gestione del catetere venoso centrale.

In questi casi i risultati dei test di conferma non sono necessari per iniziare il trattamento, poiché è dimostrato che la precocità di trattamento influenza fortemente la prognosi a distanza e sono stati osservati casi di insufficienza renale irreversibile anche dopo pochi giorni dall'esordio.

E' raccomandabile l'avvio del trattamento entro 24-48h dall'esordio.

Se eculizumab non è immediatamente disponibile è raccomandabile iniziare la plasmaferesi o almeno l'infusione di plasma.

Lo screening genetico e la ricerca degli anticorpi anti fattore H sono necessari per il programma terapeutico successivo.

- b) Trattamento in caso di presenza di anticorpi anti fattore H:** Risultati favorevoli di trattamento con plasmaferesi e immunosoppressori e/o rituximab sono presenti in letteratura. L'andamento migliore è stato osservato nei casi trattati precocemente e con titolo basso.

Le immunoglobuline non hanno mostrato un effetto positivo aggiuntivo. I pochi pazienti trattati con eculizumab hanno avuto un beneficio clinico, ma senza riduzione del titolo anticorpale, quindi il trattamento è stato protrato cronicamente, talora in associazione a steroidi e micofenolato. Studi ulteriori sono attesi per definire uno schema terapeutico standardizzato.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- c) Trattamento di prima linea nelle forme incomplete o dubbie:** Una discreta percentuale di bambini all'esordio può avere forme fruste senza piastrinopenia (15%), senza anemia (6%) o senza riduzione della funzione renale (17%). Raramente l'esordio può essere caratterizzato sintomi inusuali come la proteinuria, talora anche in range nefrosico, o con ipertensione severa anche non accompagnata da anemia e piastrinopenia o si può osservare insufficienza renale senza quadro ematologico. In questi casi è dirimente la biopsia renale per confermare le lesioni da microangiopatia trombotica.

In buona parte dei casi pediatrici la diagnosi differenziale fra SEU-STECS positive, TTP, SEU da deficit di CblC e SEUa è molto difficile e l'avvio del trattamento viene eseguito in base al giudizio clinico. In questi casi sono dirimenti test di conferma la cui rapidità consente l'avvio tempestivo del trattamento più idoneo.

Nel dubbio fra SEU-STECS e SEUa in attesa della conferma può essere consigliabile l'avvio della plasmateresi, tenendo in considerazione tuttavia che il ritardo dell'avvio dell'eculizumab può condizionare un mancato recupero funzionale. Non ci sono comunque evidenze di effetti avversi determinati dalla somministrazione di eculizumab in casi di SEU-STECS associate con diagnosi inizialmente dubbia.

Il trattamento della TTP a patogenesi immune si basa su PE + corticosteroidi ± rituximab.

La TTP congenita viene trattata con infusione di plasma 10ml/kg generalmente sufficiente ad indurre la remissione.

- d) Avvio di eculizumab dopo la plasmateresi:** È raccomandabile dopo l'avvio della plasmateresi lo switch all'eculizumab appena disponibile la conferma di diagnosi di SEUa. Anche la resistenza totale o parziale all'infusione di plasma è un'indicazione a passare a eculizumab: il paziente che, dopo circa 5 sedute quotidiane di PE (o PI se PE non era possibile), non mostra un costante trend di aumento del numero delle piastrine (particolarmente se la conta piastrinica resta $<150 \times 10^9 / l$) o non mostra una costante tendenza al ribasso del livello di LDH o nessun miglioramento della funzionalità renale è consigliabile che venga trattato con eculizumab.

Questa posizione empirica è stata frutto di ampie discussioni nel gruppo di lavoro europeo sulla SEU atipica del bambino e si propone di offrire al paziente le migliori possibilità di pieno recupero della funzione renale.

La risposta è infatti più difficile nei pazienti in terapia con plasma a lungo termine.

Non c'è motivo di cambiare la terapia in pazienti che hanno piena remissione e funzione renale normale (eGFR $> 90 \text{ ml / min / } 1,73\text{m}^2$, senza proteinuria, ematuria, ipertensione che richieda una terapia multi - farmaco) in un programma di PE / PI compatibile con la loro attività quotidiana, senza complicazioni dovute al CVC o intolleranza al plasma.

La persistenza di segni di emolisi, di attività renale o di manifestazioni extra-renali di microangiopatia trombotica (neurologiche, cardiache, vascolari) sono un altro motivo per passare il paziente da PE / PI a eculizumab.

- e) Efficacia di eculizumab nelle manifestazioni extrarenali:** L'esperienza in questo campo è limitata. Tuttavia, eculizumab è risultato efficace in case reports limitati di bambini in pericolo di vita per SEUa e ischemie degli arti con gangrena, necrosi cutanea con perforazione intestinale (51) e due adulti con lesioni cutanee ulcerative.

Eculizumab è risultato efficace nel migliorare il coinvolgimento del sistema nervoso centrale, come riportato in 8 case report, di cui 3 nei bambini. Eculizumab è stato riportato come salva-vita in tre bambini con coinvolgimento del miocardio. In qualche caso si è osservato miglioramento della vasculopatia cerebrale in soggetti in dialisi da tempo per SEUa.



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

- f) Indicazione all'eculizumab nei pazienti in dialisi: quando è ancora giustificato iniziare e quando è il momento di smettere:** La risposta a questa domanda è scarsamente supportata da evidenze. Sono riportati casi di recupero della funzione renale anche in pazienti che hanno iniziato eculizumab dopo 3-4 mesi di dialisi. Di fronte ad una diagnosi certa di SEUa può essere giustificabile mantenere il trattamento per almeno 3-6 mesi prima di poter essere certi dell'assenza di efficacia. Una biopsia renale può essere utile per la decisione di iniziare eculizumab o di proseguirlo.
- g) Nei pazienti in dialisi cronica è giustificato mantenere eculizumab per la prevenzione delle complicanze cerebrali, cardiache o macrovascolari?** Non vi sono prove sufficienti per rispondere a questa domanda. Potrebbe essere giustificabile il trattamento con eculizumab in caso di nuovi eventi vascolari non attribuibili ad altra causa diversa da microangiopatia trombotica.
- h) Monitoraggio del blocco del complemento durante la terapia con eculizumab:** Sulla base degli studi prospettici disponibili si evidenzia che il blocco del complemento si ottiene entro un'ora dopo la prima dose. Nella maggior parte dei pazienti in terapia secondo lo schema raccomandato (dosi e intervalli in base al peso nei bambini) si osserva pieno blocco del complemento tra le dosi. È consigliabile una valutazione del blocco del complemento al giorno 7, poco prima della seconda dose. Il blocco incompleto potrebbe essere attribuibile al sottodosaggio del farmaco.
- E' stata anche osservata la perdita urinaria dell'eculizumab in caso di proteinuria massiva e perdita intestinale (ad esempio dopo trapianto intestinale).
- E' stata riportata una variante del C5 geneticamente determinata che impedisce il legame dell'eculizumab a C5. Tale polimorfismo di C5 (trovato anche nella normale popolazione giapponese) è stato identificato in Giappone e pazienti di origine asiatica con EPN resistenti a eculizumab.
- Sul lungo termine, verificare il mantenimento del blocco del complemento è inutile a meno che non ci siano problemi clinici o situazioni di apparente resistenza.
- Gli attuali indicatori disponibili sono il CH50 o altri saggi basati su reazioni emolitiche. Il trattamento con eculizumab è atteso che riduca l'attività CH50 a <10% del valore normale. Questo test non può essere utilizzato nei pazienti con deficit completo di CFH nei quali i livelli di CH50 sono sempre indosabili.
- Nei casi con C3 basso eculizumab non corregge il livello di C3.
- Il C5b-9 solubile (SC5b-9) rimane rilevabile nei pazienti in terapia con eculizumab nonostante valori di CH50 inferiori al 10%, quindi si sconsiglia al momento di utilizzare il livello di SC5b-9 per monitorare l'efficacia di eculizumab.
- I dati pubblicati sulla correlazione tra i trough level di eculizumab e il grado del blocco del complemento anche se limitati, suggeriscono che livelli >100 mcg/ml riducano notevolmente l'attività CH50, mentre i livelli inferiori a 50 mg/ml non sono del tutto efficaci. La disponibilità del dosaggio ematico del farmaco è tuttavia limitata al momento.
- i) Mantenimento dell'eculizumab nei pazienti in remissione:** Le evidenze della letteratura suggeriscono che il blocco permanente del C5 con eculizumab dovrebbe essere mantenuto nei pazienti con SEUa per prevenire le recidive e la riattivazione del processo di microangiopatia trombotica renale. Pertanto, aumentare l'intervallo tra le dosi (o diminuire la dose) deve essere considerato solo nei pazienti che mantengono l'attività CH50 <10% anche con intervalli più lunghi o dosi più basse. La valutazione concomitante dei livelli ematici del farmaco può essere utile per orientare le modifiche del programma di trattamento.
- l) Quanto tempo proseguire eculizumab nei pazienti in dialisi?:** Ne' l'EMEA ne' l'FDA specificano la durata del trattamento ma dichiarano che la sospensione del farmaco potrebbe scatenare una recidiva. Non ci sono dati controllati sulla sospensione del farmaco nei pazienti affetti da SEUa e i dati



Rete Interregionale del Piemonte e della Valle d'Aosta
per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare

post studio degli studi controllati non sono stati pubblicati. La dose singola non protegge da recidiva ed è sconsigliabile. Il rischio di ricaduta dopo la sospensione di eculizumab sembra essere basso nei pazienti con mutazione di CFI isolata.

Il rischio di recidiva nelle forme di SEU da anticorpi anti-CFH dipende dal titolo anticorpale.

In sintesi, anche se limitate, le attuali esperienze pubblicate suggeriscono cautela nel considerare l'interruzione del trattamento in pazienti con mutazione di CFH.

Al contrario la sospensione di eculizumab è giustificata dopo pochi mesi di pieno recupero nei casi con mutazione isolata di MCP e probabilmente anche in quelli con mutazione isolata CFI.

E' consigliabile rimandare la sospensione dopo i 3 anni d'età quando le infezioni stagionali che possono scatenare una ricaduta, diventano meno frequenti.

Allegato 2: Score di Rose

Lo score di Rose serve a valutare la gravità del paziente affetto da TMA

	Hb g/dl	Ptts/ul	Sintomi neurologici	Crs mg%
0	> 12	> 100.000	No	0,8-1,2
1	>9 < 12	>30.000 < 100.000	Minori °	>1,2 < 2,5
2	<9	< 30.000	Maggiori *	> 2,5
° Minori: Parestesie, cefalea				
* Maggiori: deficit focali, cambio comportamentale, stupore, crisi convulsive, coma				
ARBITRARIAMENTE: ≥ 4: Indicazione a Plasma-exange				
NB: Valutazione osservazionale per score molto bassi				