

# Atypisch hemolytisch uremisch syndroom

aHUS

Ilja Depoortere

05 mei 2015

Het farmaceutische bedrijf Alexion probeerde via Victor (midden) minister Onkelinx onder druk te zetten om het geneesmiddel Soliris te laten terugbetalen door het Riziv.



# aHUS

- Zz , chronische, levensbedreigende systeemaandoening
  - Chronische activatie van de alternatieve complement pathway
  - Microangiopathische trombocytopathie (MAT)  
net zoals TTP, HUS  
klinisch moeilijk te onderscheiden
  - Snelle laboratoriumdiagnostiek voor snelle R/  
nodig !
- Nood aan een protocol

# Vragen

*Vraag 1 : Welke laboratoriumdiagnostiek nodig*

- voor diagnose aHUS*
- voor terugbetaling R/*

*Vraag 2 : Hoe kunnen we een protocol voor  
laboratoriumdiagnostiek implementeren  
om een optimale flow te creëren*

- bij de aanvragende arts*
- in het uitvoerend laboratorium*

# Overzicht

## 1. MAT :

definitie, oorzaken, klinische overlap

## 2. aHUS :

complementsysteem

hyperactivatie alternatieve pathway

## 3. Laboratoriumdiagnostiek aHUS (vraag 1)

## 4. Protocol (vraag 2)

# 1. MAT : definitie

Trombi in kleine bloedvaten met TRIADE :

1. **Trombocytopenie** (petechieën en ecchymosen)
2. Non-AI **hemolytische anemie** (bleek, icterisch)
3. **Ischemie organen**
  - \* **renaal** : ANI met oedemen, AHT, oligurie tot anurie
  - \* **neurologisch** : epilepsie, ↓BWZ, coma
  - \* **GI** : buikpijn, al dan niet bloederige diarree
  - \* **CV** : AMI, perifeer vaatlijden, gangreen
  - \* **Pulmonaal** : dyspnee

Vaak voorafgegaan door een infectie, griepaal beeld

# MAT : oorzaken

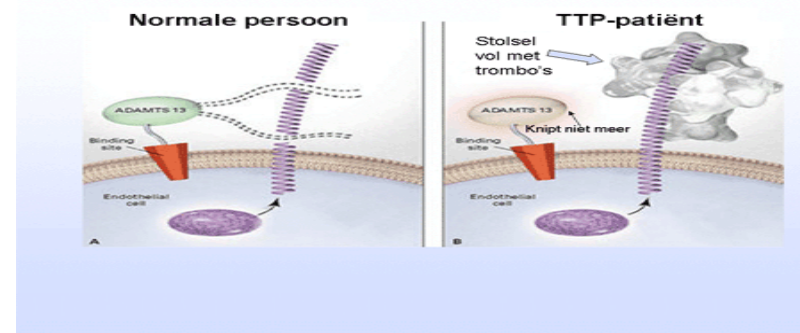
TTP	ADAMTS13 deficiëntie	Verworven / genetisch
HUS	Infecties	-Shiga toxine producerende Escherichia coli (STEC-HUS) = Typical HUS  -Streptococcus pneumoniae, Shigella dysenteriae type 1, Campylobacter
	Complement dysregulatie  = atypical HUS	Genetisch / verworven
Secundaire MAT		-Virale infecties : HIV,...  -Zwangerschap, HELLP syndroom  -Maligniteit en chemotherapie / radiotherapie / VEGF inhibitoren  -Transplantatie en calcineurine inhibitoren (bv. cyclosporine)  -Maligne hypertensie  -Systemische ziekten bv. SLE, antifosfolipiden syndroom  -Methylmalonacidemie  -Medicatie : orale anticonceptiva, ticlopidine, clopidogrel

# MAT : TTP – HUS

## Pathofysiologisch verschil

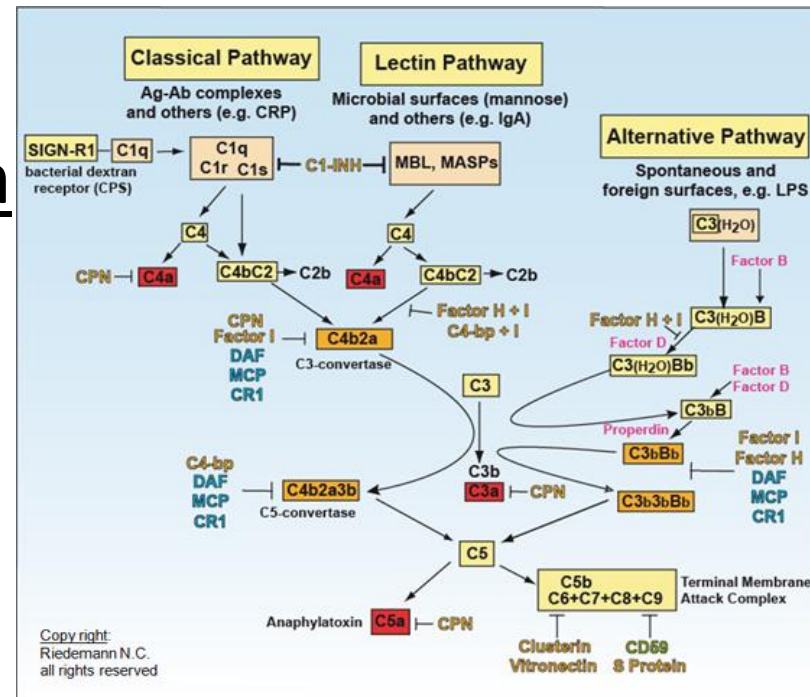
- TTP : ADAMTS-13 deficiëntie

- \* verworven antilichamen
- \* genetische mutatie



- HUS: hyperactivatie alternatieve pathway C-systeem

- Typisch : STEC-HUS
- **aHUS** : afwijking C (regulerende) eiwitten
  - \* genetische mutatie
  - \* verworven antilichamen





# MAT : TTP - HUS

## Klinische overlap

	TTP	(a)HUS
Etiologie	<b>Verworven</b> antistoffen tegen ADAMTS13 ( <i>Kind:Upshaw-Schulman Syndroom</i> )	HUS : E.Coli aHUS : <b>genetische mutaties in complementfactoren</b>
Leeftijd	<b>Volwassene</b>	<b>Kind</b>
Endotheelbeschadiging	<b>Systemisch</b> (vnl. neurologisch)	Vnl. <b>glomerulair</b> (nier)
Bloederige diarree		Meest frequent bij STEC-HUS (10% gn diarree!)
Trombocytopenie	Vaak meer uitgesproken	Soms afwezig

# aHUS

- Klinische diagnostiek moeilijk !
- Prognose : slecht !

Na 1 jaar	aHUS
Mortaliteit	25%
Nierfalen	65%
Dialyse tgv. terminaal nierfalen	50%

- **Diagnose : snel !**



- Behandeling : snel en correct!
  - nl. TTP : plasmaferese
  - aHUS : complementblokkade

# Overzicht

## 1. MAT :

definitie, oorzaken, klinische overlap

## 2. aHUS :

complementsysteem

hyperactivatie alternatieve pathway

## 3. Laboratoriumdiagnostiek aHUS (vraag 1)

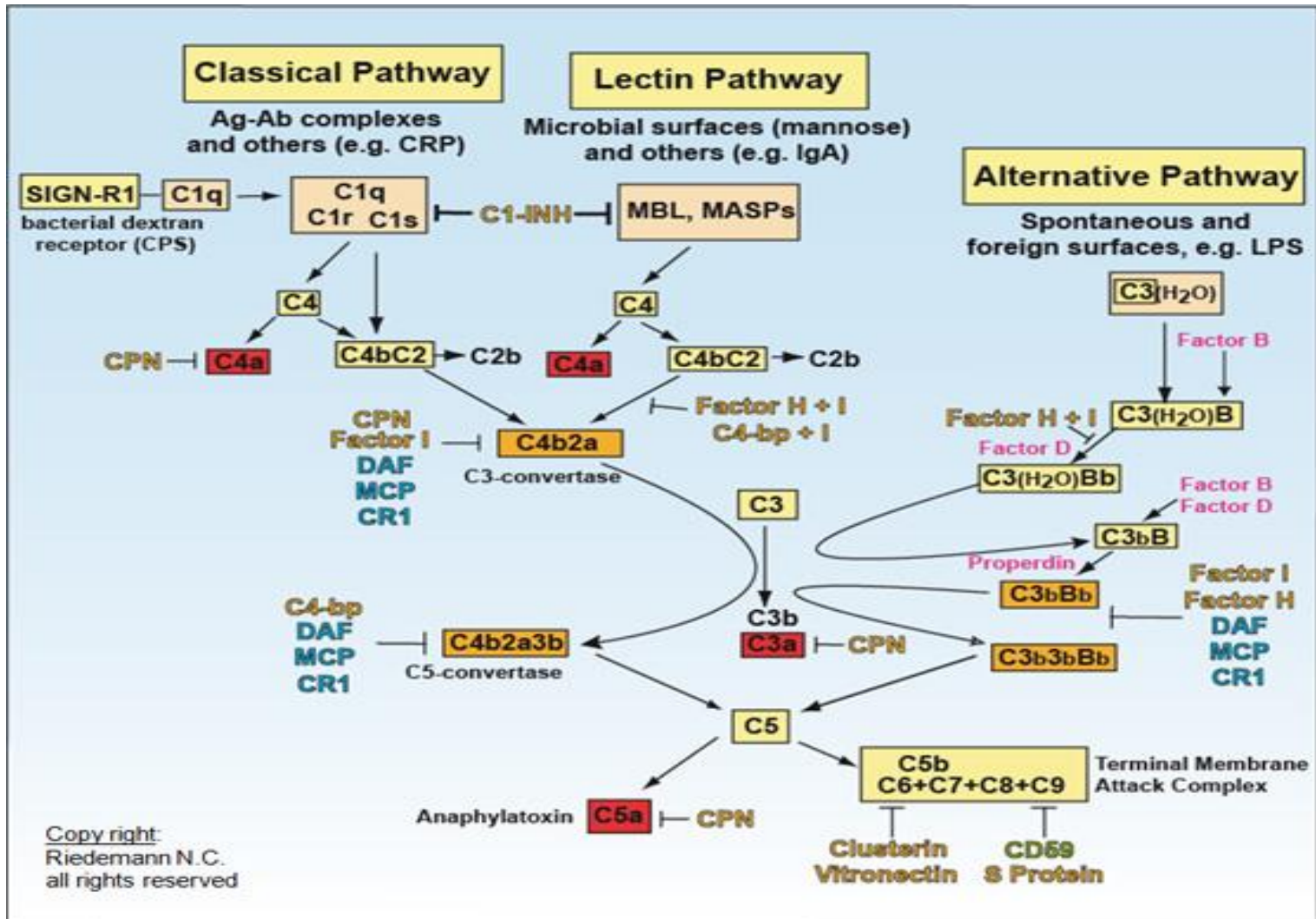
## 4. Protocol (vraag 2)

## 2. aHUS

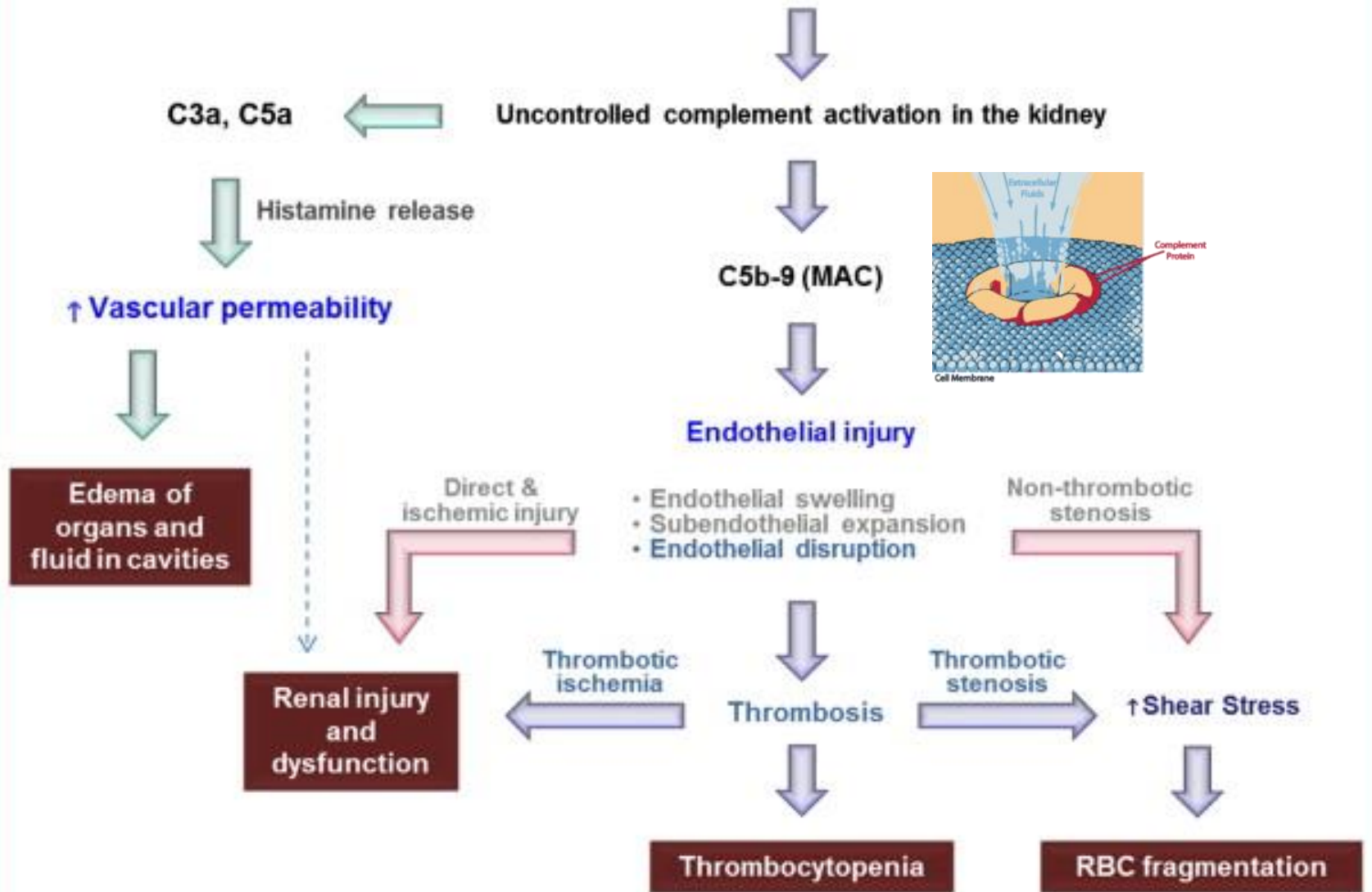
= chronische ongecontroleerde activatie van de alternatieve pathway van het C-systeem

- Alle leeftijden, meer bij kinderen
- ZZ ! Geschatte incidentie +/-  $3/10^6$ /jaar
- Sporadisch / familiaal (20%)

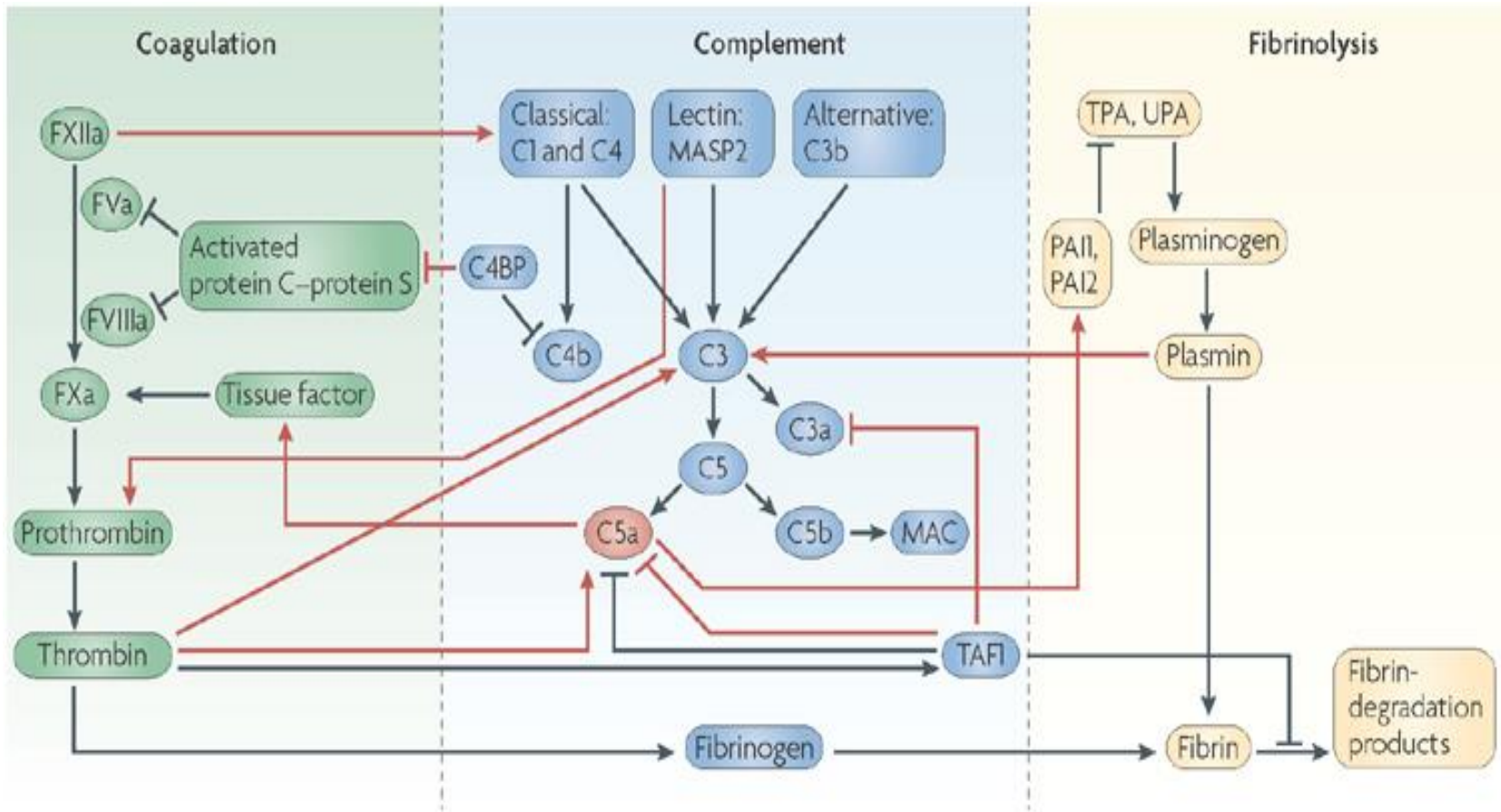
# Complementsystem



# Defective regulation of the alternative complement pathway



# Interactie complement - stolling



# Activatie alternatieve pathway

- Samen met klassieke en lectine pathway (*LPS, endotoxine*)
- Onafhankelijk door stressoren (*bv. trauma, infectie, zwangerschap, HK*)

**Activatie**  
C3 en factor B



**Inhibitie**  
Factor I en zijn co-factoren

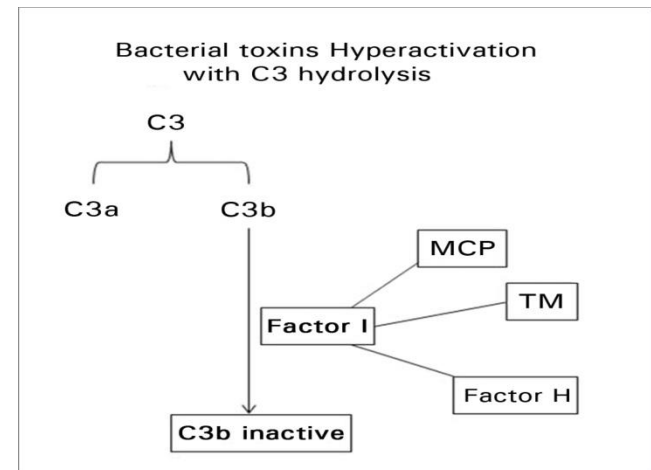
- **factor H**
- membrane cofactor protein (MCP, CD46)
- thrombomoduline (TM)

**HYPERACTIVATIE** indien:

1/ Mutaties in de genen (60%)

- Functiewinst : C3 en factor B
- Functieverlies : factor I en zijn co-factoren

2/ Anti-factor H antilichamen (10%)  
(vaak samen met mutatie)



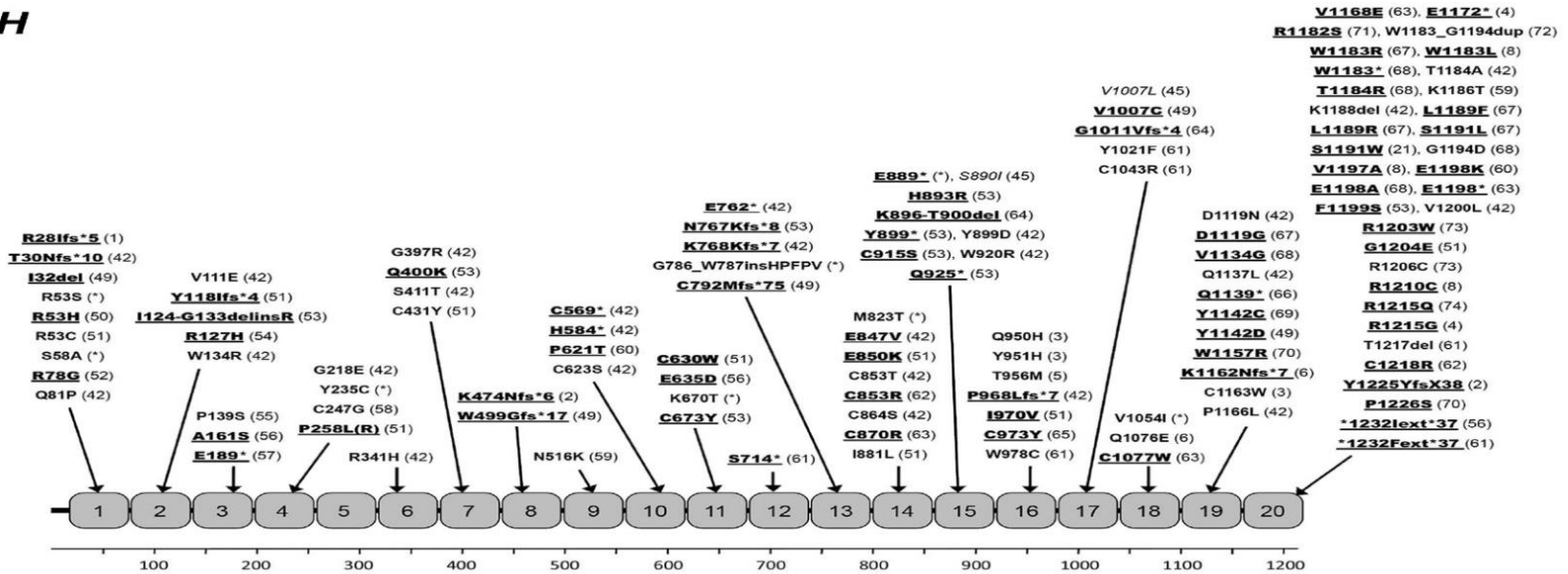


# Genmutaties

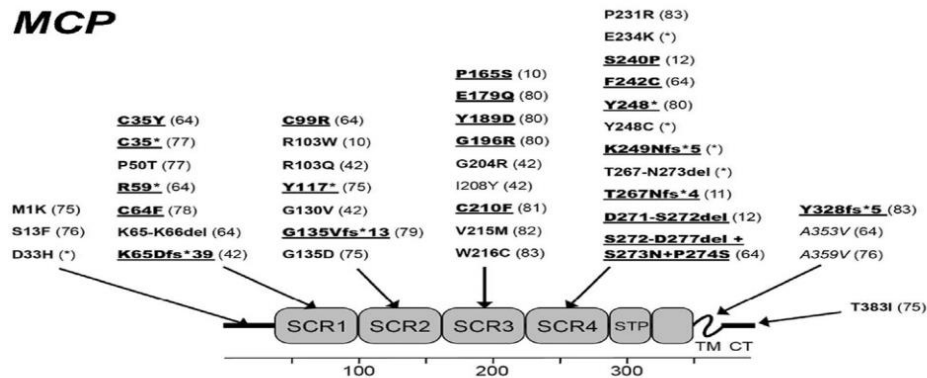
Eiwit	Gen	Aanmaak	Plaats	% in aHUS	Ontdekking
C3	C3	Lever	Plasma	5-10	2008
Factor B	CFB	Lever	Plasma	<5	2006
Factor I	CFI	Lever	Plasma	5-10	2005
<b>Factor H</b>	<b>CFH</b>	<b>Lever</b>	<b>Plasma</b>	<b>15-30</b>	<b>2001</b>
MCP (CD46)	MCP	Vele plaatsen	Membraan (alle cellen behalve rbc)	10-15	2003
Thrombomoduline			Membraan (endotheel/ Mesotheel)	5	
Anti-factor H AL	CFHR1/ CFHR3	Lymfocyt	Plasma	5-10	2010
Nt geïdentificeerd				40	

# Genmutaties

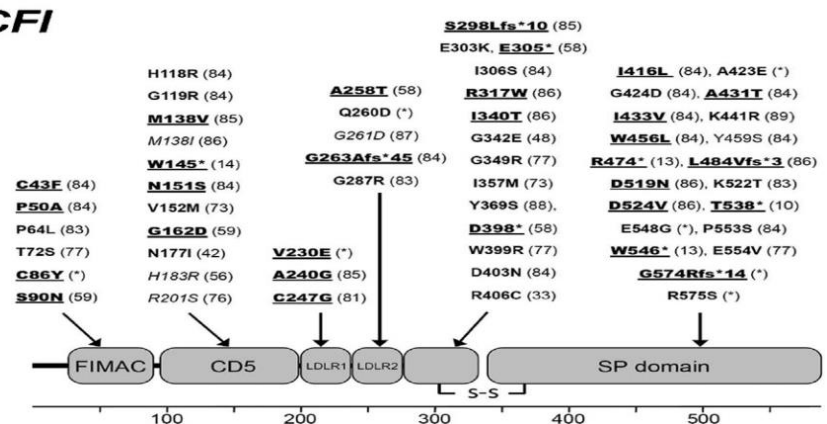
## CFH



## MCP



## CFI



De Cordoba SR, Hidalgo MS, Pinto S et al. Genetics of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome (aHUS). Semin Thromb Hemost 2014;40:442-430.

# Overzicht

## 1. MAT :

definitie, oorzaken, klinische overlap

## 2. aHUS :

complementsysteem

hyperactivatie alternatieve pathway

## 3. Laboratoriumdiagnostiek aHUS (vraag 1)

## 4. Protocol (vraag 2)

*Vraag 1 : Welke laboratoriumdiagnostiek nodig*

*- voor diagnose aHUS*

*- voor terugbetaling R/*

A/ Confirmatie MAT

B/ Uitsluiten van andere MAT

C/ Proberen aantonen van aHUS

# A/ Confirmatie MAT

- **Trombopenie** : bp <  $150 \times 10^3/\text{mm}^3$  of daling > 25%
- Niet-AI **hemolytische anemie** :
  - Niet-AI : Coombs-
  - Hemolyse : Haptoglobine < 30 mg/dL  
(Indirect bilirubine ↑)  
LDH > ULN (meestal > 600 IU/L)  
Schistocyten (begin soms 1/micr. veld !)
  - Anemie : Hb < 10g/dL
- **ANI**: ureum, creat ↑, eGFR ↓, proteïnurie, hematurie, biopsie  
(in 20% normale nierfunctie bij initiële presentatie!)  
OF  
Betrokkenheid van **andere organen** (hersenen, GI, longen!)

# B/ Uitsluiten van andere MAT

## 1/ STEC-HUS :

- E.coli : cultuur - serotypering
- Shigella toxine : PCR

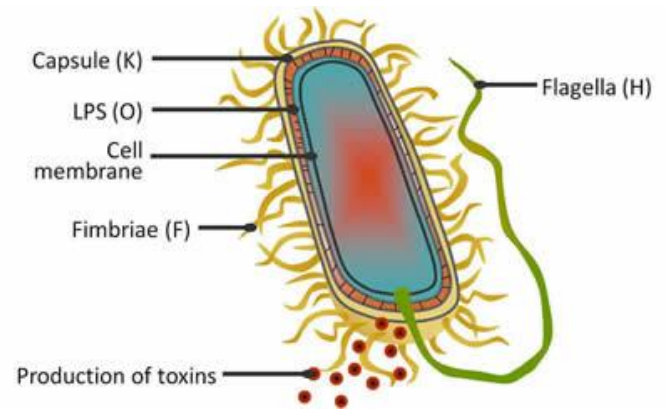
## 2/ TTP:

- ADAMTS13 activiteit  $\leq 5\%$ 
  - anti-ADAMTS13 antilichamen

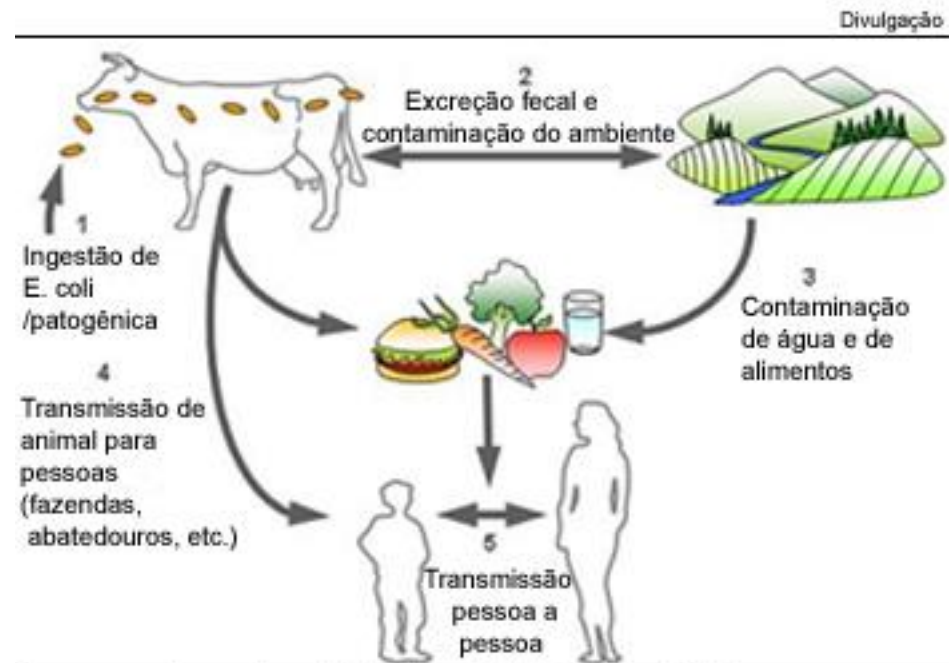
## 3/ Secundaire oorzaken van MAT

# 1/ STEC-HUS

- EHEC = Enterohemorrhagische E. coli  
VTEC : Verotoxine producerende E. coli  
STEC : Shigatoxine “ “  
(200 serotypes - meest pathogene **0157:(H7)**)  
(andere: O26, O103, O111, O121, O145, O104, H4)



- Transmissie  
-runderen (37,8% drager)  
*(huid, urine, faeces, mest...)*  
-Voedsel/drinken  
*filet americain (0,1% besmet)*  
-mens op mens



O esquema acima mostra o ciclo de transmissão da bactéria E. Coli

# Klinisch verloop STEC

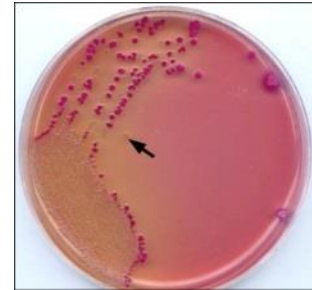
- Incubatie : 1 – 6 dagen
- Symptoomvrij of diarree (90%)
  - **hemorragische colitis ZONDER KOORTS** (70%)
    - Evolutie naar HUS (5 à 10%)
- HUS vnl. kind < 5 jaar  
(belangrijkste oorzaak van NI bij kinderen !)
- STEC-HUS :
  - 75% herstelt met supportieve maatregelen
  - 25% heeft sequellen
  - dood in 1 à 5%



# Diagnostiek STEC

## 1. Cultuur :

SMAC lichtroze kolonie = **sorbitol negatieve 0157** (meest frequente)



## 2. Serotypering op kolonie (agglutinatie)

Zo 0157 (:H7)

→ REFERENTIECENTRUM : UZ BRUSSEL (Prof. Piérard) voor  
confirmatie/ additionele serytypering én :

## 3. Virulentiefactoren (PCR)

1. Shigatoxine (stx1, stx2, stx2f)

Indien positief : aanvullend :

2. Intimine (eaeA gen)

3. Enterohemolysine (ehxA gen)

→ Typische EHEC = aanwezigheid van de 3 virulentiefactoren

→ Atypische EHEC = ontbreken van eaeA en/of ehxA

4. *aggR* gen (Aggregative Adherence Fimbriae)

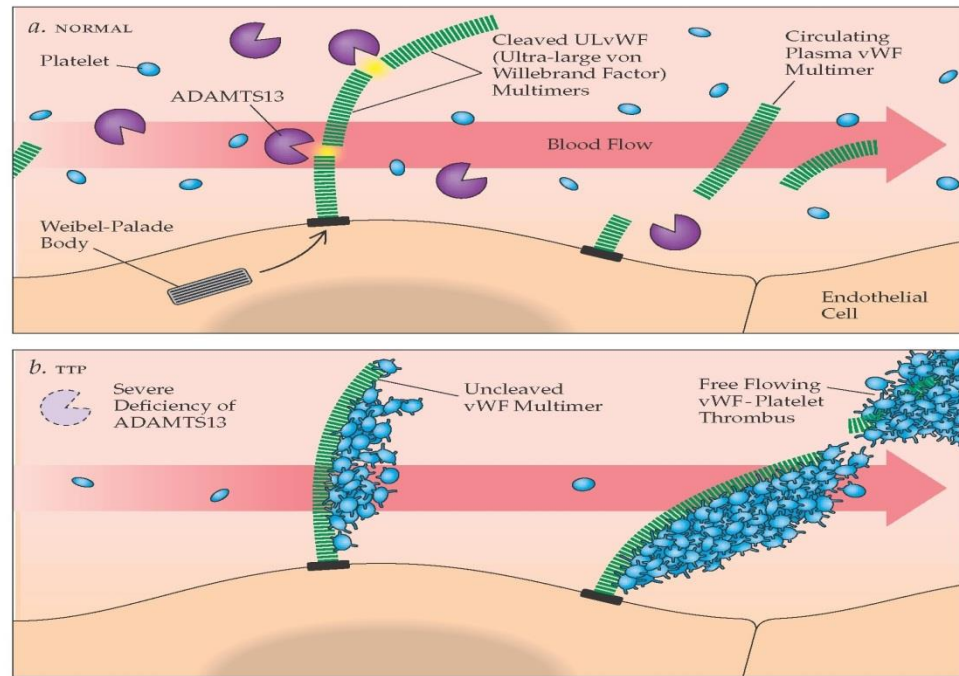
(komt voor bij enteroaggregatieve EHEC O104:H4)

4. Uitzonderlijk: zo late diagnose HUS (faeces neg.): Serotypering op serum van anti-O (= anti-LPS)



# 2/ ADAMTS-13

- ADAMTS 13 activiteit < 5%  
(VWprotease)



- anti-ADAMTS 13 IgG antilichamen

# 3/ Secundaire MAT

Streptococcus pneumonia	Hemocultuur, sputum-, cerebrospinaal vocht
<ul style="list-style-type: none"><li>--Virale infecties : HIV,...</li><li>-Zwangerschap, HELLP syndrome</li><li>-Maligniteit en chemotherapie / radiotherapie / VEGF inhibitoren</li><li>-Transplantatie en calcineurine inhibitoren (bv. Cyclosporine)</li><li>-Maligne hypertensie</li><li>-Systeemziekten e.g. systemische lupus erythematosus (SLE), antifosfolipide antilichamen</li><li>-Methylmalonzuur acidemie/urie (tgv. vitamin B12 = cobalamine afwezigheid)</li><li>-Medicatie : oral contraceptiva, ticlopidine, clopidogrel, kinine</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Serologisch onderzoek, viral load</li><li>- <math>\beta</math>HCG, hemolyse, leverseet, bloedplaatjes</li>      <li>-Antinucleaire antilichamen, lupus anticoagulans, anti-cardiolipine antilichamen</li> <li>-Aminozuren in plasma en urine, organische zuren, MMACHC gen (factor cobalamine-b)</li></ul>

# C/ Proberen aantonen van aHUS

## 1/ Dosage complement (regulerende) eiwitten

CH50

AP50

C3, C4

C3 d en C3d/C3 ratio is meer sensitief

→ Te verwachten : CH50 en C4 normaal, AP50 en C3 laag, C3d verhoogd

FB, FI en cofactor FH

Functie : cofactoren FH, MCP

En/of

## 2/ Genmutaties

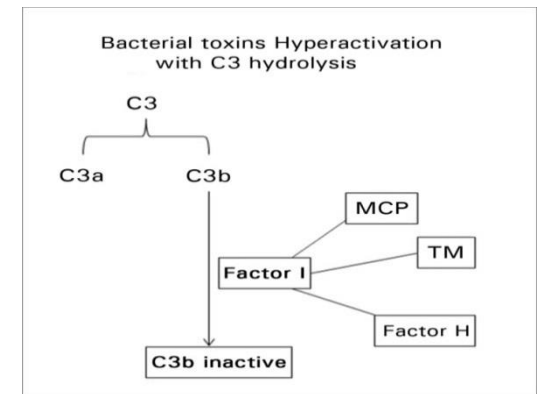
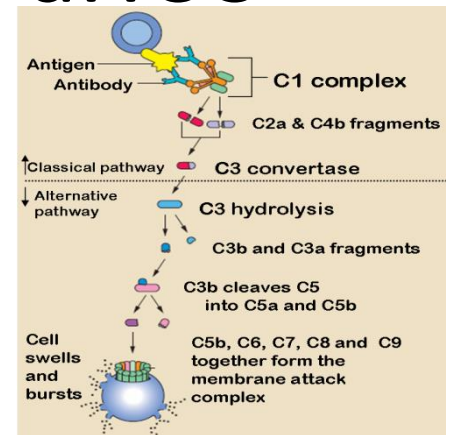
FI en cofactoren FH, MCP (CD 46)

TMD (volgend jaar!)

DGKE (diacyl glycerol kinase-ε)

Of

## 3/ Anti-factor H antilichamen



# Opmerkingen

- 1/ Normale **dosage complement (regulerende eiwitten)** sluit aHUS niet uit  
C3 en C4 dosage is normaal in > 80% aHUS  
factor H is normaal in 87% vd patiënten met fH mutatie  
Afwijkende dosage C3 toont aHUS niet aan  
nl. C3 kan ook transiënt gestegen zijn bij TTP
- 2/ Afwezigheid van **genetische afwijking** sluit aHUS niet uit  
nl. in slechts 60% genetische mutaties aangetoond  
(genome-wide sequencing zal percentage doen toenemen)  
Aanwezigheid toont aHUS niet aan  
nl. incomplete penetrantie (omgevingsfactoren)
- 3/ **Anti-factor H antilichamen**  
slechts in 10% aanwezig

# Behandeling

Plasmatherapie *(weinig invloed op NI, dood – cave: afhankelijkheid, herval)*

Niertransplantatie *(prognose slecht – cave : rejectie)*



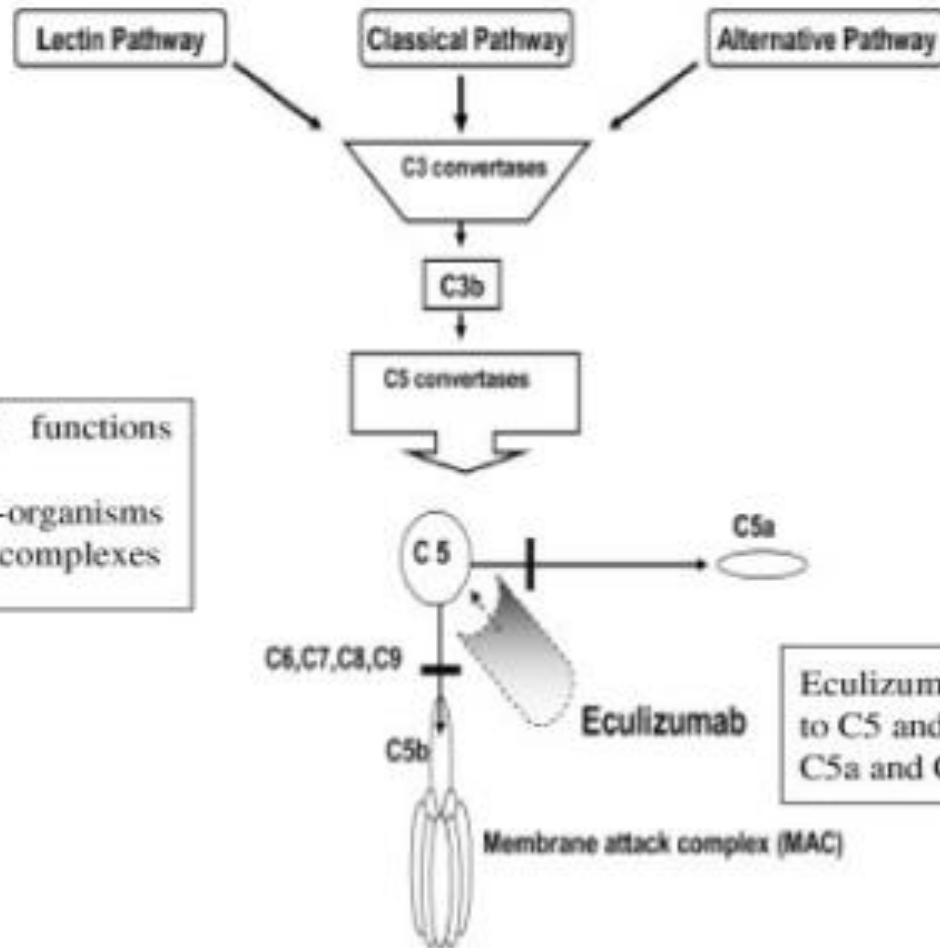
Complementblokkade +

Ondersteunende R/ :

nierdialyse, antihypertensiva, transfusie...

# Complementblokkade

Soliris = Eculizumab = humaan monoclonaal anti C5



Complement proximal functions are preserved :

- opsonization of micro-organisms
- clearance of immune complexes

Terminal complement activation is inhibited  
→ increased susceptibility to meningococcal infections

# Medicijn Viktor vanaf juli 2013 terugbetaald



Het geneesmiddel Soliris wordt vanaf 1 juli terugbetaald voor PNH- en aHUS-patiënten. Dat zijn minister van Volksgezondheid Laurette Onkelinx en de firma Alexion overeengekomen. Daarmee is er een oplossing voor de 7-jarige Viktor.

Standaard 07/05/2013



# Soliris

## VOORDELEN:

- Hematologische remissie : grotere kans  
bp ↑ na 1<sup>e</sup> dosis
- **Nierfunctie beter**  
**vaak normalisatie**, geen dialysenood meer
- **Herval** : minder groot
- Tolerantie goed

## NEVENWERKINGEN:

- **Neisseria meningitidis infectie** : verhoogd risico  
→ Profylactisch vaccinatie en antibiotica
- Weinig frequent : AHT, infectie (BLW/UW)



# Delmas et al

- 20 patiënten met langdurige aHUS / CNI

	26 weken	1 <sup>e</sup> jaar	2 <sup>e</sup> /3 <sup>e</sup> jaar
Hematologische remissie	90%	90%	90%
Verbetering renaal ↓ creat ≥ 25%	15%	35%	55%
eGFR ≥ 15 mL/min/1,73m <sup>2</sup>	5%	15%	40%
Remissie MAT	80%	85%	95%

Geen meningococceninfecties / nevenwerkingen

# Behandelingsprotocol MAT

- Plasmaferese **onmiddellijk** starten (ev. FFP)
- STEC-HUS uitsluiten (1d)
- ADAMTS-13 uitsluiten (2d à 1w)
  - < 5% : TTP → plasmaferese verder
  - > 5% : aHUS → plasmaferese stoppen en C-inhibitoren opstarten

MAAR SOMS DELAY IN DIAGNOSE OF MISDIAGNOSE :

1/ ADAMTS-13 niet onmiddellijk bepaald :

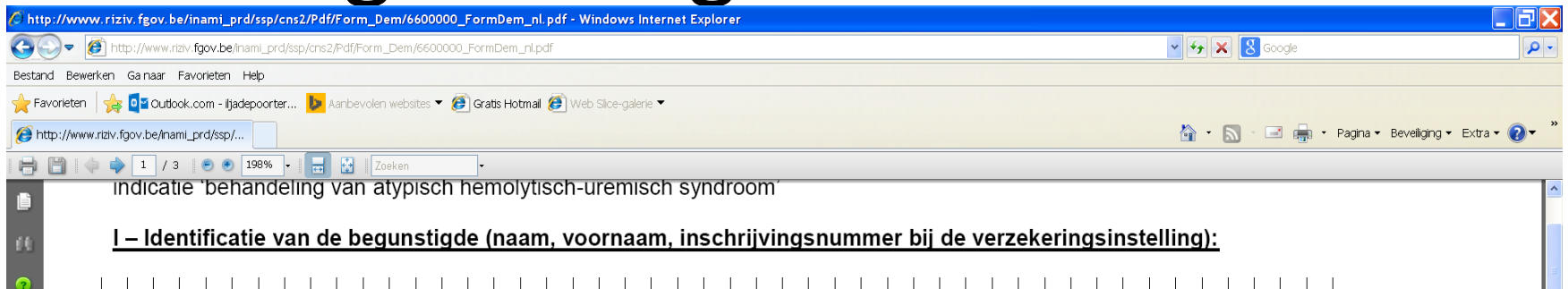
na plasmaferese geen interpretatie meer mogelijk !

2/ Foutief als TTP geïnterpreteerd (ADAMTS-13 >5%, respons plasmaferese)

3/ Diagnose primaire MAT niet gesteld

bv. maligne hypertensie en SLE kunnen zich presenteren als MAT of samen voorkomen met MAT

# Terugbetalingscriteria SOLIRIS



verklaar dat de hierboven vermelde patiënt lijdt aan atypisch Hemolytisch-Uremisch Syndroom (aHUS), , en dat hij voldoet aan alle voorwaarden van punt a) van § 6600000 van hoofdstuk IV van het KB van 21 december 2001:

- Voorwaarden die betrekking hebben op de diagnosestelling, bevestigd door een dosering van de complement-proteïnes en/of het aantonen van genetische anomalieën van het complement of antilichamen anti-CFH ;

Ik verklaar dat de andere oorzaken van het hemolytisch-uremisch syndroom uitgesloten werden (zoals HUS veroorzaakt door Shiga-toxine, secundair aan een infectie met streptococcus pneumoniae of met HIV, HUS geassocieerd met methylmalonaat acidurie met homocystinurie, met kanker, met de inname van verschillende geneesmiddelen, met zwangerschap, met HELLP-syndroom (hemolytic anemia, elevated liverenzymes and low platelets) en met andere vormen van trombotische microangiopathie zoals trombotische purpura thrombocytopenie (PTT) te wijten aan een tekort van ADAMTS13). Ik voeg aan de aanvraag de resultaten toe van de onderzoeken/analyses die toelaten om deze pathologieën uit te sluiten en de resultaten die toelaten om de diagnosestelling van aHUS te bevestigen.

Ik verklaar dat de patiënt geen aHUS heeft gelinkt aan de mutatie DGKE.



# Overzicht

## 1. MAT :

definitie, oorzaken, klinische overlap

## 2. aHUS :

complementsysteem

hyperactivatie alternatieve pathway

## 3. Laboratoriumdiagnostiek aHUS (vraag 1)

## 4. Protocol (vraag 2)

*Vraag 2 : Hoe kunnen we een protocol voor laboratoriumdiagnostiek implementeren om zo een optimale flow te creëren zowel bij de aanvragende arts als in het uitvoerend laboratorium?*

- Overzicht labo:
  - interne analyses met staaltype
  - externe analyses met staaltype en verzendinginstructies
- Overzicht aanvragende arts:
  - staaltype + aantal van ieder staaltype
  - kostprijs van analyses voor patiënt

# Interne analyse in ZOL

Analyse	Staal
Hb, hct, rbc, MCV, wbc, blpl, Formule+ perif. bloeditstrijkje Reticulocyten Sedimentatie, Coombs	EDTA
Haptoglobine, HIV, ANA	Serum
Ijzer, Ferritine, Transferrine, Vitamine B12, Foliumzuur Leverset, LDH Creatinine, ureum, Ionogram CRP $\beta$ HCG	Heparine
PT, APTT, fibrinogeen, D-dimeren Lupus anticoagulans, Anti-cardiolipine antistoffen	Citraat
Cultuur	Hemocultuur
Sediment + cultuur	Urine
Cultuur	Faeces

# Externe analyse

Extern	Nummer	Analyse	Prijs voor patiënt	Staal	Verzend-instructie
UZLeuven	40112	VWase	80€	Citraat	Ingevroren plasma
	2041	C3	RIZIV	Serum	Ingevroren serum  (CH50 gekoeld centrifugeren !)
	208	C4	RIZIV		
	3001	CH50 Factor B dosage	RIZIV 11€		
ULB (Erasme)		AP50 (ELISA) Factor I dosage Factor H dosage Factor H functie Anti-factor H antistoffen	16€ 32€ 16€ 16€ 15€	Serum	Ingevroren serum in <b><u>3 aliquots</u></b>
		MCP functie (CD46)	RIZIV		
Institut de pathologie/ génétique (Charleroi)		Factor I mutatie Factor H mutatie MCP mutatie DGKE mutatie	1 <sup>e</sup> 3samen 8,5€ 4 samen: 16€	EDTA	Niet centrifugeren! Kamertemperatuur



# Nodige stalen voor analyse

Bloed	Culturen
3 x EDTA 3x serum 1x heparine 2 x citraat	3 koppels hemoculturen 1 urinestaal voor sediment en cultuur 1 faecesstaal voor cultuur

**Correcte aantal stalen dient afgenomen te worden vóór start plasmaferese !!!**

Na opstarten plasmaferese is geen correcte interpretatie meer mogelijk !!

# TO DO/ACTIONS

- Multidisciplinair overleg met alle betrokken artsen
- Presentatie van het project aan de MLT's
- Follow-up van implementatie en correctie waar nodig

# Besluit



# Besluit aHUS

- Zeldzame, levensbedreigende systeemaandoening
- Chronische ongecontroleerde activatie van de alternatieve pathway tgv. stoornissen in C / regulerende proteïnen (H!)
- Overlap in klinische symptomen met andere MAT's
- Snelle diagnose en therapie van belang voor outcome!
- Labo testen nodig voor
  - bevestigen MAT
  - uitsluiten andere oorzaken nl. TTP, STEC-HUS
  - proberen aantonen van aHUSVoldoende tubes afnemen gezien plasmaferese wordt gestart !
- Van zodra TTP uitgesloten (ADAMTS-13 >5%):
  - stop plasmaferese
  - start Eculizumab= 1<sup>e</sup> lijnsbehandelingsamen met ondersteunende therapieën
- Indien geen verwachte respons op plasmaferese bij vermoeden TTP, andere MAT  
→ steeds denken aan mogelijkheid aHUS !

