

Atypický hemolyticko-uremický syndrom a současné názory na jeho léčbu

prof. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.

Klinika nefrologie, 1. LF UK a VFN, Praha

Atypický hemolyticko-uremický syndrom (aHUS) je relativně vzácnou příčinou trombotické mikroangiopatie (TMA) a představuje 5–10 % všech HUS. Jde o velmi vzácné a život ohrožující onemocnění se systémovými projevy, které, pokud je neléčené, má špatnou prognózu s vysokou morbiditou i mortalitou. Více než 40 % pacientů s aHUS je starších 18 let. Onemocnění je způsobeno alterací funkce některých složek komplementu, kdy dochází k trvalé aktivaci jeho alternativní cesty. Tyto odchylky mohou mít genetický původ, kdy v důsledku mutace v různých genech regulujících komplement dochází k poruše funkce těchto faktorů, nebo se mohou tvořit protilátky proti složkám komplementu. Nejčastěji se setkáváme s mutacemi v genu pro komplementární faktor H (CFH), I (CFI) a B (CFB), které mívají závažnější průběh choroby, naopak prognosticky méně závažné bývají mutace postihující geny pro membránový proteinový kofaktor (MCP) či thrombomodulin (THBD). U dospělých pacientů zůstává iniciální léčbou stále podávání infuzí mražené plazmy (PI) či výměnné plazmaferézy (PE), zatímco u dětí a dospělých závislých či nereagujících na tuto léčbu je lékem volby eculizumab. Jde o humanizovanou monoklonální protilátku proti komplementárnímu faktoru C5, která rychle normalizuje parametry hemolýzy a zlepšuje renální funkce. Prognóza nemocných s aHUS se díky eculizumabu výrazně zlepšila, nicméně s nabývajícími vědomostmi a zkušenostmi s léčbou vyvstávají některé otázky, na které je třeba hledat odpovědi. Příkladem může být, jak dlouho léčbu podávat, kdy a za jakých podmínek je možné léčbu ukončit, jak přistupovat k nemocným indikovaným k renální transplantaci a spousta dalších. Některé z nich se snažíme zodpovědět v tomto článku.

Klíčová slova: trombotická mikroangiopatie, atypický hemolyticko-uremický syndrom, faktory komplementu, renální selhání, eculizumab.

Atypical hemolytic uremic syndrome and current view on the treatment

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is one of many causes of thrombotic microangiopathies (TMA) and represents about 5–10% of all HUS. aHUS is a very rare life-threatening disease with can impair many body systems and untreated disease can have a very poor prognosis with high morbidity and also mortality. More than 40% of patients are older than 18 years of age. Permanent activation of alternative complement pathway due to the defective function of some complement factors is a leading cause of the disease. Alteration in some complement factors function is caused by loss of function mutations in responsible genes or in formation of specific autoantibodies against these factors. The most frequent mutations are in complement factor H (CFH), I (CFI) and B (CFB), which are associated with worse course of the disease. Mutations in genes for membrane cofactor protein (MCP) or thrombomodulin (THBD) are associated with better outcomes by contrast. Treatment with plasma infusions (PI) or plasma exchanges (PE) remains still the first therapeutic step during treatment of adults while eculizumab represents the first line of treatment in children and is also a drug of choice in adult patients who are refractory to or dependent on PI/PE. Eculizumab is humanized monoclonal antibody against complement factor C5 which very effectively blocks alternative pathway activation and leads to normalization of parameters of haemolysis and also to normalization of renal function. Prognosis of patients treated by eculizumab is currently significantly better but the treatment generates many questions which need to be answered. For example, how long should be patients treated, when we can stop the treatment, how to manage patients with terminal renal failure who are indicated to renal transplantation, and many others. We try to find some answers in this article.

Key words: thrombotic microangiopathies, atypical hemolytic uremic syndrome, complement factors, renal failure, eculizumab.



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: prof. MUDr. Romana Ryšavá, CSc., rysavar@vfn.cz
Klinika nefrologie, 1. LF UK a VFN, Praha
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Cit. zkr: Interní Med. 2017; 19(3): 116–124
Článek přijat redakcí: 10. 3. 2017
Článek přijat k publikaci: 20. 3. 2017

Úvod

TMA jsou charakterizovány mikroangiopatickou hemolytickou anémií, trombocytopenií a poškozením orgánů v důsledku formování destičkových trombů v mikrocirkulaci. Společným patogenetickým mechanismem je u všech forem TMA poškození endotelu. V klinické praxi je třeba rozlišit dvě základní skupiny onemocnění, **hemolyticko-uremický syndrom (HUS)** a **trombotickou trombocytopenickou purpuru (TTP)**. HUS potom etiologicky rozdělujeme na řadu dalších nozologických podjednotek podle vyvolávající příčiny (tab. 1).

Epidemiologie a patogenese aHUS, genetické testování

Atypický HUS je způsoben nerovnováhou mezi aktivátory a regulátory alternativní cesty aktivace komplementu ve prospěch aktivátorů. Mezi regulátory patří zejména CFH, CFI, MCP a THBD, mezi aktivátory pak C3 složka komplementu a CFB (1). Komplement se aktivuje 3 způsoby, a sice klasickou cestou, lektinovou cestou a alternativní cestou. Všechny vedou ke konverzi C3 složky komplementu (pomocí C3 konvertázy) na její aktivní složku C3b. Ta následně spouští procesy ochraňující organismus před útokem zvenčí, zejména před bakteriemi. Dochází jednak k opsonizaci (vazbě C3b na povrch mikrobů), k formování C5b-9 komplexu (membrane attack complex, MAC), který vede k lýze mikrobů

a dále k uvolňování anafylatoxinů, jako jsou C3a a C5a (2). Tato aktivace komplementu je prakticky trvalá, a tak musí být nějakým způsobem regulována, aby nedošlo k poškození vlastních tkání. Hostitelská buňka je před trvalou aktivací komplementu chráněna komplementárními faktory cirkulujícími v plazmě (CFH a CFI), které se po aktivaci komplementu nějakým zevním podnětem váží na buněčný povrch. Další ochranu představují proteiny exprimované na povrchu endotelu (MCP a THBD), které spolu s faktory cirkulujícími v plazmě dohromady neutralizují efekt C3b a MAC. Dominantní roli v této kaskádě na úrovni cirkulace hraje CFH.

Genetickými vyšetřeními se podaří prokázat mutaci v některém z komplementárních faktorů asi u 50–60 % případů aHUS s familiárním výskytem. Tyto hereditární formy onemocnění mohou mít autozomálně dominantní i recesivní typ dědičnosti a podle typu mutace se manifestují v dětském věku či adolescenci.

Nejčastěji mutace v souboru dětí s aHUS postihovaly CFH (20–30 % všech případů), MCP (5–15 %) a CFI (4–10 %) (3). Mutace v CFB a C3 byly méně časté (do 10 %). Velmi časný začátek onemocnění (krátce po porodu) je typický pro mutace v CFH a CFI, naopak mutace postihující MCP se klinicky manifestují až v pozdějším věku. Pro většinu mutací v CFH a CFI je typickým nálezem snížení plazmatické koncentrace C3 složky komplementu, což je projevem aktivace

komplementu; u mutací v MCP bývá C3 normální. Normální koncentrace C3 ale v žádném případě nevylučují přítomnost mutace. C4 složka komplementu bývá povětšinou v normě. Z hlediska rozvoje renálního selhání či úmrtí v prvním roce od rozvoje onemocnění mají jednoznačně nejhorší prognózu mutace v CFH (až 60 % pravděpodobnost), zatímco u mutací v MCP je prognóza nejpříznivější (do 6 %) (tab. 2). Jde o život ohrožující stav s možností multiorgánového poškození a selhání. K rozvoji aHUS mohou vést také genetické abnormality v genech, které nepřímo ovlivňují funkčnost komplementárních proteinů. Sem patří například delece v genech pro CFHR1 a CFHR3 (4). CFHR (CFH related genes) je celkem 5 genů (CFHR1–5), které jsou uloženy v těsné blízkosti genu pro CFH s velmi vysokou homologií ve struktuře genu s genem pro CFH. Určitá kombinace delecí (nejčastější CFHR1/CFHR3), či dokonce vznik genu CFH/CFHR1 pak vede k syntéze hybridního nefunkčního proteinu s rozvojem aHUS. Vznik takto chybně syntetizovaných proteinů může být jednou z příčin vzniku protilátek proti CFH (anti-CFH) (5). Nejenom delece celých částí genu, ale i záměny jednoho nukleotidu (SNP) mohou, pokud se vyskytují v určité kombinaci, být příčinou určité predispozice ke vzniku onemocnění (6). Byly popsány určité kombinace tří SNP, které vedly k rozvoji tzv. rizikového haplotypu (jeho nositelé nemají symptomy onemocnění, ale v případě „druhé

Tab. 1. Klasifikace trombotických mikroangiopatií podle etiologie (upraveno podle: Loirat Ch et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(1): 15–39)

Trombotické mikroangiopatie	
Trombotická trombocytopenická purpura ADAMTS13 aktivita < 10 %	Kongenitální deficit ADAMTS13 (mutace v genu pro ADAMTS13) Anti-ADAMTS13 protilátky
HELLP syndrom	
Hemolyticko-uremický syndrom	<div> <div>HUS asociovaný s koexistujícími chorobami</div> <ul style="list-style-type: none"> ■ Transplantace kostní dřeně ■ Transplantace solidních orgánů ■ Malignity/protinádorová terapie ■ Autoimunní choroby (SLE, antifosfolipidový syndrom, sklerodermie, dermatomyositida) ■ Léky (CNI, sirolimus, anti-VEGF protilátky, ticlopidin, interferon β,...) ■ Maligní hypertenze ■ HIV infekce </div> <div> <div><i>Streptococcus pneumoniae</i> – HUS</div> <div>Influenza A/H1N1 – HUS</div> <div>STEC-HUS</div> <div>Kobalamin C deficientní HUS</div> <div>HUS při mutaci v DGKE</div> <div> <div>HUS s aktivací či dysregulací v alternativní cestě komplementu (atypický HUS)</div> <div>Anti-CFH protilátky</div> <div>Mutace ve faktorech: CFH, CFI, MCP, C3, CFB, THBD</div> </div> <div>Nejasné příčiny HUS</div> </div>

ADAMTS13 – A Disintegrin And Metalloproteinase with a ThromboSpondin type 1 motif, member 13; HELLP – hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count; SLE – systémový lupus erythematosus; CNI – kalcineurinové inhibitory; VEGF – vascular endothelial growth factor; STEC – Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; DGKE – diacylglycerol kinase; CFH – complement factor H; CFI – complement factor I; MCP – membrane cofactor protein; C3 – complement factor C3; CFB – complement factor B; THBD – thrombomodulin

Tab. 2. Nejčastější příčiny geneticky podmíněného atypického hemolyticko-uremického syndromu a riziko rekurence po transplantaci (převzato z: Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussa R, et al. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7: 23–35)

Mutace postihující faktor	Lokalizace faktoru	Vliv mutace na aktivitu faktoru	Frekvence mutace u aHUS (%)	Frekvence rekurence aHUS po transplantaci ledviny (%)
CFH	plazma	snížená	20–30	75–90
CFI	plazma	snížená	2–12	45–80
CFB	plazma	zvýšená	1–2	100
C3	plazma	zvýšená	5–10	40–70
MCP	membrána	snížená	10–15	15–20
THBD	membrána	snížená	5	1 případ
Genetické polymorfismy, frekvence v kontrolní populaci				
Homozygocie CFHR1del (3–8%)	Cirkulující	není přesně znám	14–23 (> 90% u nemocných s anti-CFH protilátkami)	není známa

CFH – komplementární faktor H; CFI – komplementární faktor I; CFB – komplementární faktor B; MCP – membránový kofaktorový protein; THBD – trombomodulin; CFHR1 – gen příbuzný ke CFH; aHUS – atypický hemolyticko-uremický syndrom

zásahu“ se onemocnění rozvine), a naopak protektivní haplotypy, které svého nositele chrání před rozvojem aHUS.

MCP je transmembránový glykoprotein, který funguje jako kofaktor CFI, spolu s nímž štěpí C3b a C4b na membráně hostitelských buněk. MCP je vysoce exprimován v ledvinách na povrchu endoteliálních buněk. Je hlavním ochráncem renálního endotelu před negativním vlivem aktivovaného C3 (7). THBD je endoteliální glykoprotein, který vykazuje antikoagulační, protizánětlivý a cytoprotektivní efekt. Mutace v genu pro THBD způsobují, že C3b složka komplementu není na povrchu endotelu dostatečně inhibována, a může tak dojít k jeho poškození (8).

V méně než 5 % případů aHUS se může jednat o **získané onemocnění se vznikem protilátky**, která neutralizuje efekt příslušného regulačního faktoru (např. anti-CFH). U většiny detekovaných anti-CFH protilátek bylo prokázáno, že jsou namířeny proti C-terminální části CFH, která je důležitá pro vazbu tohoto faktoru na endotel (9). Výsledkem porušené vazby je trvalá aktivace alternativní cesty komplementu se zvýšenou produkcí MAC, který je zodpovědný za smrt buněk, trombózu a spuštění lokálního zánětu (1). aHUS vznikl jako kombinace anti-CFH protilátek a genetické dispozice (kombinace určitých polymorfismů v genech CFHR1/CFHR3 vedoucí k jejich deficienci) se označuje jako DEAP-HUS (deficient for CFHR proteins and factor H autoantibody positive) (9).

V poslední době byly také identifikovány mutace v dalším proteinu, DGKE (diacylglycerol kinase ξ), které mohou vést k rozvoji aHUS (10). DGKE patří do rodiny lipidových kináz, které jsou exprimovány na povrchu endoteliálních buněk (EC), destiček a podocyty. AR mutace

v tomto genu mohou vést prostřednictvím aktivace proteinové kinázy C, ICAM-1 a tkáňového faktoru k upregulaci protrombogenních faktorů a trombocytů (11). Současně může být zvýšená apoptóza a porušená migrace EC na povrchu glomerulárních kapilár a snížená angiogeneze. Díky expresi DGKE i na povrchu podocyty se u postižených jedinců vyskytuje nefrotický syndrom jako projev podocytopatie. Jelikož příčinou TMA je zde primárně porucha proliferace EC a angiogeneze, spíše než komplementem mediované poškození endotelu, neodpovídá tento typ aHUS ve většině případů na terapii eculizumabem.

Ne všechny nalezené mutace ale vedou k rozvoji aHUS, respektive nejsou patognomické (12). Autoři této publikace se zaměřili na objasnění, zda mutace a změny na úrovni genu (většinou SNP) v CFB genu, které zvyšují aktivitu C3-konvertázy, či vedou k její dysregulaci, jsou také spojené s rozvojem aHUS. Zjistili, že jen 9 z 15 identifikovaných odchylek na úrovni genu bylo skutečně doprovázeno klinickými projevy aHUS. Je proto nezbytné nutné, aby každá nově identifikovaná genetická odchylka byla doprovázena vyšetřením funkční schopnosti daného proteinu a jeho dopadu na aktivaci komplementového systému.

Pokud dojde v důsledku aHUS k ireverzibilnímu renálnímu selhání a nemocní jsou po určité době transplantováni, závisí riziko rekurence aHUS na typu mutace (tab. 2) (13). Nejvyšší pravděpodobnost rekurence (80–100%) mají mutace v CFH nebo CFI, zatímco u mutací v MCP je to kolem 20%. U nemocných, kde neprokážeme žádnou mutaci (což nevylučuje existenci nové, dosud nepopsané), se riziko rekurence odhaduje na 30%. Problémem nadále zůstává vznik aHUS

de novo po transplantaci ledviny, který postihuje 1–5 % příjemců orgánů. Ukazuje se, že až 30 % těch příjemců, kteří vyvinou aHUS po transplantaci, jsou nositeli nějaké genetické abnormality ve faktorech regulujících komplement. Jedná se u nich o určitou genetickou predispozici (či přítomnost tzv. rizikového haplotypu), která se za normálních okolností a před transplantací nemanifestuje. Určitý stupeň endoteliálního poškození, který vzniká po každé transplantaci (ischemicko-reperfuční poškození, cytokinová bouře, vliv podávání kalcineurinových inhibitorů), je možným spouštěcím faktorem pro manifestaci této dosud skryté genetické abnormality (14). Vliv léků (cyklosporin A, takrolimus či např. OKT3 protilátky) na rozvoj *de novo* vzniklého aHUS po transplantaci rozhodně není zanedbatelný. Po samotném cyklosporinu A se riziko rozvoje aHUS odhaduje na 5–15 %, po takrolimu je podstatně nižší (jen asi 1 %) (15).

Otázka genetického testování a jeho načasování u nemocných s aHUS je v poslední době také velmi aktuální (16). Dle mezinárodního konsensu odborníků zabývajících se touto problematikou se provedení genetické analýzy bez většího prodlžení doporučuje u všech nemocných s relapsem aHUS, v případě familiárního výskytu HUS v rodině, vznikne-li HUS post-partum či po transplantaci solidního orgánu. Jde-li o první ataku aHUS, mělo by se před provedením genetiky vždy vyloučit, že HUS není způsoben jinou příčinou (STEC-HUS; HUS asociovaný s jinými vyvolávajícími chorobami – nádory, léky, autoimunita atd.; kovalamin C deficientní HUS) a nebo že nejde o TTP (těžká deficeience ADAMTS13). Genetické vyšetření je také indikováno u všech pacientů s aHUS před transplantací ledviny i u pacientů, kde byla jako

příčina aHUS prokázána přítomnost anti-CFH protilátek (i u těchto nemocných může být přítomna závažnější mutace).

Klinický obraz a laboratorní nálezy

U pacientů s HUS jakékoli etiologie obvykle zjišťujeme trombocytopenii ($< 150,10^9/l$ nebo pokles trombocytů o $> 25\%$ proti vstupní hodnotě), která může být provázena purpurou, spíše zřídka větším krvácením. Dalším typickým rysem je hemolytická anémie (často výrazná s hemoglobinem pod 65 g/l s hyperbilirubinemií, retikulocytózou, zvýšeným volným hemoglobinem v plazmě, sníženým haptoglobinem a výrazně zvýšenou laktátdehydrogenázou – LD), která odráží nejen hemolýzu, ale i tkáňovou hypoperfuzi v důsledku mikroinfarktů. Typický je nález schistocytů v krevním nátěru a negativní Coombsův test. Někdy se setkáváme se snížením C3 složky komplementu, což signalizuje aktivaci alternativní cesty komplementu. Většina pacientů vyvíjí různý stupeň renálního poškození až s rozvojem oligoanurie, obvykle i s těžkou hypertenzí. Průjemy, které jsou typické pro STEC-HUS, se ale mohou objevit i u nemocných s aHUS, a to až ve 30 % případů. Neurologickými příznaky trpí až 48 % pacientů s aHUS, kardiovaskulární příhody má kolem 43 % nemocných. Nejčastější klinické příznaky vyskytující se u aHUS jsou shrnuty v tabulce (tab. 3).

Diagnóza a diferenciální diagnóza HUS

Diagnóza je většinou možná na základě popsaných klinických a laboratorních změn. Největší problém je odlišit HUS od TTP. U většiny pacientů s TTP lze prokázat sníženou aktivitu proteázy ADAMTS13, která štěpí neobvykle velké multimery von Willebrandova faktoru (obr. 1). V diferenciální diagnóze musíme dále zvážit zejména maligní hypertenzi, sklerodermii, diseminovanou intravaskulární koagulaci a systémové choroby, jako je systémový lupus erythematosus a vaskulitidy. Renální biopsie je indikována u pacientů s dominujícím renálním poškozením a ne zcela jasnou diagnózou za situace, že trombocytopenie není kontraindikací výkonu.

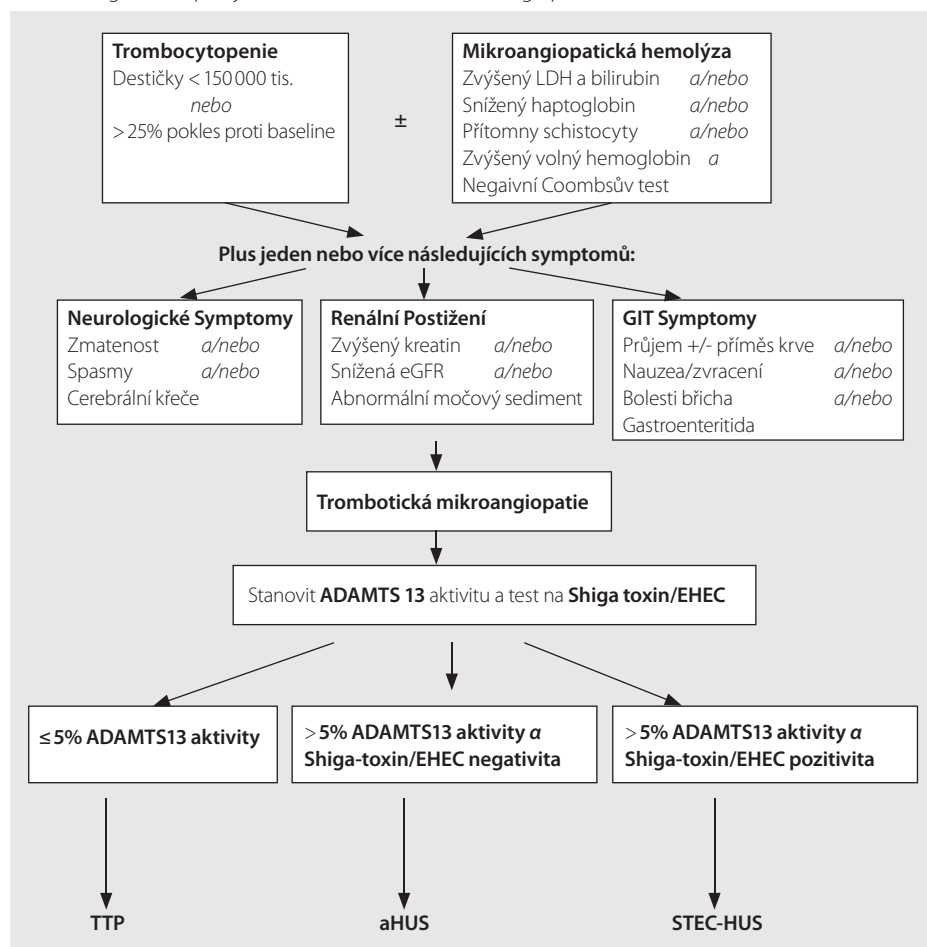
Terapie aHUS

U dospělých pacientů zůstává iniciální léčbou stále podávání PI (doplnění chybějícího fak-

Tab. 3. Nejčastější klinické projevy vyskytující se u nemocných s atypickým hemolyticko-uremickým syndromem

Postižený orgán	Klinické projevy
Ledviny	Zvýšený kreatinin Proteinurie, erytrocyturie Otoky, maligní hypertenze Renální selhání
Srdce a cévy	Infarkt myokardu Tromboembolismus Kardiomyopatie Difúzní vaskulopatie
Plíce	Dušnost Plicní edém Krvácení do plic
CNS	Zmatenost, poruchy chování Křeče, epilepsie Cévní mozkové příhody Encefalopatie Ložiska mozkové hemoragie
Gastrointestinální trakt	Jaterní nekróza Pankreatitida, diabetes mellitus Kolitida, průjemy Nausea/zvracení Bolesti břicha
Ostatní	Purpura na kůži Únava

Obr. 1. Algoritmus při vyšetřování trombotické mikroangiopatie



toru, který je nefunkční či syntetizovaný v menším množství v důsledku genetické mutace) či PE, které mají výhodu nejen v doplnění chybějícího faktoru, ale i v odstranění případných pro-

tilátek proti němu. PE je výhodnější u pacientů se srdečním nebo renálním selháním, kde je množství plazmy, které je možno podat, omezené. Obvykle je doporučena výměna jednoho

plazmatického volumu (40 ml/kg hmotnosti) denně, v těžších případech je někdy nutné provádět PE i dvakrát denně. Ke zlepšení příznaků TMA, neurologického nálezu či renálního selhání dochází obvykle během 48 hodin, trombocyty se ale normalizují až v průběhu několika dní. Pokud nemocný při léčbě PE/PI normalizuje hematologické parametry a renální funkce, je možné na této terapii setrvat s jejím postupným vysazováním. V případě, že tato léčba není efektivní (ať již jde o normalizaci hematologických či renálních parametrů), nemocný je na ní závislý déle jak 5–7 dní, či je spojena s nežádoucími účinky, má se nemocný převést na terapii ecilizumabem. U pediatrických pacientů je ecilizumab doporučován jako lék první volby a zde bychom po stanovení diagnózy aHUS měli léčbu zahájit bezprostředně.

Ecilizumab je rekombinantní humanizovaná monoklonální IgG2/4k protilátka, která obsahuje lidskou IgG2 a IgG4 oblast a myši variabilní části lehkých a těžkých řetězců cílenou proti C5 složce komplementu (17). Ecilizumab se specificky a velmi těsně váže na C5 složku komplementu, zabraňuje jejímu štěpení na C5a a C5b složky a tím následně i vzniku komplexu C5b-9. Tímto mechanismem přerušuje alternativní cestu aktivity komplementu, která se uplatňuje v patogenezi řady imunitních stavů. Vzhledem k blokádě terminální cesty aktivity komplementu jsou nemocní více náchylní k infekčním komplikacím. Z těchto důvodů je podmínkou podání proběhlé očkování proti meningokokové meningitidě (či profylaktická antibiotická terapie) a vysoké opatrnosti je potřeba u infekcí *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenza*. Tato léčba vede během hodin k vymizení příznaků TMA a ke stabilizaci, či pozvolnému zlepšení renálních funkcí. Průkaz genetické mutace onemocnění není podmínkou zahájení léčby.

Studie s ecilizumabem

Recentně publikované 2 studie u pacientů s aHUS starších 12 let ukázaly, že podávání ecilizumabu je spojeno se signifikantním zlepšením glomerulární filtrace a vzestupem počtu trombocytů (18). Šlo o prospektivní studie, které sledovaly efekt ecilizumabu u nemocných s progresivním průběhem onemocnění (studie 1) a u nemocných s dlouhodobou aktivitou choroby a s renálním poškozením a dependencí na PE/PI (studie 2). V obou studiích byli nemocní

léčeni ecilizumabem 26 týdnů s následnou možností pokračovat v léčbě. Do studie 1 (progresivní onemocnění) bylo zařazeno celkem 17 nemocných; 15 pacientů dokončilo 26týdenní periodu „indukční léčby“ a 13 vstoupilo do pokračující léčby. Vyhodnocení sledovaných cílů studie proběhlo v 64. týdnu. Primární cíle této studie byly dva: inhibice komplementem mediované TMA definované změnou počtu trombocytů a dále normalizace hematologických parametrů (normální počet trombocytů a LD nejméně ve dvou měřeních po sobě v průběhu 4 týdnů). Sekundárním cílem pak byla doba bez výskytu ataky TMA.

Do studie 2 (nemocní dlouhodobě dependentní na PE/PI alespoň po dobu 8 týdnů) bylo skrínováno 23 nemocných; 20 nemocných bylo nakonec léčeno 26 týdnů a stejný počet pacientů vstoupil do extendované fáze studie. Vyhodnocení sledovaných cílů studie proběhlo v 62. týdnu. Primární cíle této studie byly opět dva: dosažení periody bez výskytu ataky TMA po dobu nejméně 12 týdnů (bez poklesu trombocytů > 25 %, bez PE či PI a bez nutnosti zahájit dialyzační léčbu) a dále normalizace hematologických parametrů. Sekundárními cíli obou studií bylo sledování změn renálních parametrů, změn v kvalitě života (hodnocené pomocí dotazníku EQ-5D), výskyt nežádoucích účinků léčby a další. Ecilizumab byl podáván ve standardních dávkách, všichni nemocní museli absolvovat vakcinaci proti meningokokové meningitidě či byli zajištěni profylaktickou antibiotickou léčbou. Medián věku byl v obou studiích 28 let (rozptyl 17–68 ve studii 1 a 13–63 ve studii 2 resp.), medián doby od stanovení diagnózy aHUS do skríningu byl 9,7, resp. 48,3 měsíce. Anamnézu transplantace (Tx) ledviny mělo 7 nemocných (41 %), resp. 8 nemocných (40 %). Medián sérového kreatininu byl 256 (124–787), resp. 234 (106–893) $\mu\text{mol/l}$. Genetický původ onemocnění nebyl nalezen u 4 (24 %), resp. 6 (30 %) nemocných.

Ve studii 1 bylo podávání ecilizumabu spojeno se signifikantním absolutním zvýšením počtu trombocytů v průměru o 73×10^9 v l v 26. týdnu (95% CI 40–105 $\times 10^9$ v l; $p < 0,001$) a o 91×10^9 v l v 64. týdnu (95% CI 67–116 $\times 10^9$ v l; $p < 0,001$). Nejvýznamnější vzestup trombocytů byl zaznamenán okolo 7. dne od zahájení léčby. K normalizaci laboratorních parametrů hemolýzy došlo u 88 % nemocných

a u stejného počtu nemocných nedošlo během léčby k relapsu TMA. Během léčby docházelo ke kontinuálnímu zlepšování renální funkce a v 26. týdnu léčby byl zaznamenán průměrný vzestup GF o 32 ml/min (14–49 ml/min; $p = 0,001$), stejný trend byl i v týdnu 64. Současně se zlepšováním GF docházelo také ke snižování proteinurie. U 4/5 dialyzovaných nemocných došlo k obnovení renální funkce a mohlo u nich být ukončeno dialyzační léčení. Čím časněji bylo zahájeno podávání ecilizumabu, tím byla větší šance na zlepšení GF.

Ve studii 2 bylo primárního cíle dosaženo u 80 % nemocných v 26. týdnu léčby a u 85 % v 64. týdnu léčby. U všech nemocných ve studii bylo možné ukončit léčbu PE/PI a nikdo nemusel nově zahájit dialyzační léčbu. K normalizaci parametrů hemolýzy došlo u 90 % nemocných. I v této studii docházelo během léčby ke kontinuálnímu zlepšování renální funkce (o 6–9 ml/min). Parametry kvality života se v obou studiích zlepšily, dle očekávání došlo ke zlepšení zejména u nemocných ve studii 1 (o 0,32 na stupnici od 0 do 1, zlepšení celkem u 87 %; i ve studii 2 byla překročena klinicky pozorovatelná hranice pro zlepšení, celkem zlepšeno 73 % nemocných). Léčba byla celkově dobře tolerována. Dvouleté sledování léčených pacientů vyústilo v extenzi těchto dvou studií a potvrdilo přetrvávající efekt léčby ecilizumabem a jeho bezpečnost a velmi dobrou toleranci (19).

Další data o ecilizumabu a jiné možnosti léčby aHUS

Bezpečnost a účinnost ecilizumabu u pediatrických pacientů byla prokázána v řadě kauzistických sdělení a menších retrospektivních studiích (20). Následně byl jeho efekt potvrzen i v prospektivní studii fáze II zahrnující 22 pediatrických pacientů (ve věku 5 měsíců až 17 let) (21). Ecilizumab se dával v závislosti na hmotnosti pacientů a primárním cílem bylo dosažení kompletní remise TMA v 26. týdnu léčby. Během této doby 14 pacientů dosáhlo kompletní remise TMA, 18 znormalizovalo hematologické parametry a u 16 pacientů došlo ke zlepšení renálních parametrů. U všech nemocných, kteří byli předtím léčeni PI/PE, bylo možno tuto léčbu ukončit a 9/11 nemocných, kteří byli léčeni dialýzou, přerušili i tuto léčbu a žádný další pacient nemusel dialýzu zahájit. Léčba byla pacienty velmi dobře tolerována

a všechny zaznamenané nežádoucí účinky neměly vztah k podávané léčbě.

Rychlost zahájení terapie eculizumabem může mít zásadní vliv na celkovou výslednou renální funkci nemocných. Tuto problematiku studovala práce vyhodnocující data z celkem čtyř prospektivních studií fáze 2 u nemocných léčených eculizumabem (22). U celkem 97 nemocných ve věku 1 měsíc až 80 let se pomocí multivariátní regresní analýzy vyhodnocovaly faktory, které měly vliv na výslednou renální funkci po roce od stanovení diagnózy. Ukázalo se, že nemocní, u kterých byla léčba eculizumabem zahájena v intervalu ≤ 7 dní od stanovení diagnózy měli výrazně vyšší vzestup eGF oproti vstupní hodnotě než pacienti, u kterých byla léčba zahájena po > 7 dnech (57 vs. 23 ml/min/1,73 m²; $p = 0,0098$). Vyšší vzestup eGF znamenali zejména ti pacienti, kteří byli mladšího věku, měli vstupně vyšší hodnoty LD a nižší hodnoty vstupního hemoglobinu.

Eculizumab se může vylučovat močí (zejména u nemocných s velkou proteinurií, resp. nefrotickým syndromem) a střevem (třeba při průjmech). V těchto případech je potřeba dávky eculizumabu zvýšit a monitorovat jeho účinek pomocí stanovení úrovně blokády alternativní cesty komplementu (koncentrace CH50, C3d).

Další léčebné možnosti aHUS, jako rekombinantní CFH či THBD, jsou zatím ve fázi klinických studií. Klinické studie probíhají i s jinou látkou, která je označována jako TT30. Jde o monoklonální protilátku proti komplementárnímu faktoru C3, která by, podobně jako eculizumab, měla být schopna blokovat aktivaci komplementu alternativní cestou.

Ukončení terapie eculizumabem

Zatímco indikace pro nasazení eculizumabu jsou stále jasnější, velkou výzvu pro lékaře představuje otázka případného ukončení léčby. V některých případech chce léčbu ukončit sám pacient, v jiných ji zvažujeme z důvodu kompletní remise onemocnění a odeznění či zvládnutí vyvolávající příčiny (např. je-li aHUS spuštěn post-partum, je-li v kompletní remisi onkologické onemocnění, či pokud se vysadí rizikový lék). Častým důvodem může být i obava nemocných a jejich ošetřujících lékařů z nežádoucích účinků léčby (riziko meningokokové infekce), z tvorby neutralizačních protilátek (vzácné), ale i vysoké náklady na léčbu. V případě ukončení léčby je

vždy nutné zvážit genetický profil pacienta a jeho rizikovost pro možnou rekurenci onemocnění. V italské práci retrospektivně sledující osud 10 nemocných s aHUS, u kterých byla léčba přerušena, došlo k rekurenci onemocnění u 3 pacientů v průběhu 6 týdnů od ukončení terapie (23). Všichni 3 nemocní byli nositeli mutace v CFH faktoru, zatímco pacienti bez rekurence měli mutace v genech pro ostatní faktory, či přítomnost anti-CFH aHUS. Znovunasazení eculizumabu vedlo k rychlému zvládnutí relapsu. Pokud se již přistoupí k ukončení terapie eculizumabem, je nezbytné nemocné velmi pečlivě monitorovat v domácím prostředí, aby bylo možné včas zachytit případný relaps onemocnění. Autoři zde doporučují vyšetřování moči pomocí testacích proužků 3x týdně. Pokud se objeví hematurie, která může signalizovat hemoglobinurii, má být nemocný ihned vyšetřen v nemocnici a provedeny kompletní odběry k vyloučení relapsu onemocnění. Podobné téma komentovali ve svém sdělení i autoři z Holandska, kteří vysadili eculizumab u 4 svých nemocných, všichni byli nositeli mutace v genu pro CFH (24). Z těchto 4 nemocných došlo k relapsu onemocnění jen u jednoho z nich. Jedním z faktorů, který by potenciálně mohl ovlivnit to, zda nemocní s mutací v CFH faktoru zrelabují, či nikoli, by mohl být typ mutace. Pokud mutace postihne exon 19 a 20 genu pro CFH, pak je pravděpodobnost rozvoje relapsu větší než u mutace v jiných exonech. Posledním sdělením publikovaným na toto téma je práce francouzských autorů, kteří sledovali osud 38 nemocných s aHUS, kteří ukončili terapii eculizumabem a kteří byli evidováni v jejich národním registru (25). Z celkového počtu 108 pacientů, kteří byli léčeni eculizumabem, léčbu přerušilo 29 dospělých a 9 dětských pacientů. Průměrná doba léčení eculizumabem byla 17,5 měsíce, průměrná doba sledování 22 měsíců. Celkem 12 nemocných z 38 s ukončenou léčbou (31 %) zrelabovalo, průměrná doba do relapsu byla 7,5 měsíce (3–29). Z těchto 12 mělo 8 pacientů mutaci v CFH faktoru (72 % z celkového počtu všech nemocných s touto mutací v souboru), 4 měli mutaci v MCP proteinu (50 % všech nemocných s mutací v tomto faktoru) a žádný relaps nebyl zaznamenán u 16 nemocných, kde nebyla nalezena žádná známá mutace asociovaná s aHUS. Znovunasazení eculizumabu vedlo u všech nemocných s relapsem k rychlému zvládnutí onemocnění, a tak výsledná

renální funkce zůstala nezměněna v porovnání s hodnotami před vysazením eculizumabu jak ve skupině bez relapsu, tak i ve skupině s relapsem onemocnění.

Terapie u anti-CFH pozitivních pacientů

U části nemocných s aHUS je příčinou onemocnění tvorba protilátek proti CFH (anti-CFH). Tito nemocní mají dnes výrazně lepší prognózu než v minulosti a základní léčba je zde založena zejména na imunosupresivní terapii. Protože stanovení přítomnosti anti-CFH protilátek nějakou dobu trvá, zahajuje se léčba aHUS stejně jako u jiných forem onemocnění, tedy eculizumabem či PE/PI a po potvrzení přítomnosti anti-CFH protilátek se do terapie přidává imunosupresivní léčba (pulsy cyklofosfamidů či rituximab jako indukční terapie následovaná malou dávkou kortikosteroidů spolu s azathioprinem či mykofenolát mofetilem). Terapii eculizumabem či PE/PI je většinou možné brzy ukončit a pokračovat v imunosupresivní léčbě. Cílem je dosáhnout nízkého titru anti-CFH protilátek ($< 1\,000$ AU/ml), kde je již riziko relapsu onemocnění malé. Imunosupresivní léčbu je možné zkusit ukončit po roce trvání remise onemocnění za předpokladu, že anti-CFH jsou $< 1\,000$ AU/ml, C3 je v normě a nejsou žádné další laboratorní známky TMA (16).

Těhotenství a aHUS

Těhotenství představuje velmi rizikové období pro první manifestaci aHUS anebo pro relaps onemocnění. Typicky dochází k rozvoji TMA u nemocných s aHUS post-partum či během třetího trimestru gravidity. V souboru 100 pacientek s aHUS se první příznaky TMA objevily u 21 z nich v souvislosti s těhotenstvím; u 79 % z nich to bylo post-partum (26). Rozvoj aHUS byl podstatně častější u žen s druhou graviditou a dále u žen mladších (26 ± 5 let u žen s rozvojem aHUS v souvislosti s graviditou v.s. 33 ± 12 let bez souvislosti s těhotenstvím; $p < 0,05$). U 17 z 21 nemocných (81 %) se vyvinulo akutní renální selhání; 62 % zůstalo závislých na dialýze i po měsíci od stanovení diagnózy a během dalšího sledování se toto číslo zvýšilo na 76 %. Je třeba ale podotknout, že v té době ještě nebyla k dispozici léčba eculizumabem a nemocné byly léčeny jen PE. Z 21 pacientek mělo 18 prokázanou mutaci v některém genu regulujícím komplementární

Tab. 4. Faktory ovlivňující riziko rekurence atypického HUS po transplantaci ledviny (upraveno podle: Loirat Ch et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(1): 15–39)

Stupeň rizikovosti a typ mutace	Léčba
Vysoké riziko rekurence: ■ Mutace v CFH, C3, CFB ■ Předchozí ztráta funkce štěpu z důvodu rekurence aHUS bez ohledu na typ mutace	Profylaktické podávání eculizumabu
Střední riziko rekurence: ■ Mutace v CFI ■ Kombinované MCP mutace	Profylaktické podávání eculizumabu nebo provádění výměnných plazmaferéz
Nízké riziko rekurence: ■ Mutace v DGKE ■ Izolované mutace v MCP ■ Bez prokázané mutace ■ Nízký titr anti-CFH protilátek	Bez profylaktické terapie

DGKE – diacylglycerol kinase ϵ ; CFH – complement factor H; CFI – complement factor I; MCP – membrane cofactor protein; C3 – complement factor C3; CFB – complement factor B; aHUS – atypical hemolytic-uremic syndrome

faktory. Zajímavé je, že pokud byla přítomna mutace v genu pro CFH (45 % případů), postižení SCR19–20 domény u těhotných s aHUS bylo méně časté než u pacientek s aHUS, které těhotné nebyly. Ne u všech pacientek s prokázanou mutací v některém z komplementárních faktorů (celkem jich bylo v souboru 44) se onemocnění manifestovalo v graviditě. Těchto 44 nemocných bylo dohromady 103× těhotných; riziko ztráty plodu u nich bylo 4,8 %; riziko preeklampsie 7,7 % a riziko rozvoje aHUS 17,4 %. Zbytek gravidit (74,7 %) dopadl dobře jak pro matku, tak plod.

Novou nadějí pro těhotné s aHUS je podávání eculizumabu i během gravidity. Eculizumab neprochází placentou a do plodu, takže by jeho podávání v graviditě pro plod mělo být bezpečné. U řady těhotných ale bývá potřeba podávanou dávku navyšovat, aby byla zajištěna dostatečná blokáda alternativní cesty komplementu. Dat o výsledcích těhotenství je ale stále málo a některá nejsou příliš povzbudivá. Recentně publikovaná práce shrnovala výsledky 6 gravidit u celkem 3 pacientek léčených eculizumabem (27). Dvě gravidity skončily potratem či úmrtím plodu intrauterinně. U všech čtyřech zbylých gravidit šlo o předčasný porod, kdy 1× se rozvinul HELLP syndrom a 2× těžká preeklampsie. Dvě děti měly těžkou růstovou retardací, průměrná porodní váha všech pak byla 1 633 g (1 070–2 500). Tyto výsledky tedy nejsou příliš povzbudivé, ale současně je třeba říci, že všechny matky měly již před koncepcí středně těžkou až těžkou renální dysfunkci, arteriální hypertenzi (v průměru na dvojkombinaci antihypertenziv) a mutace v genech, které neumožňovaly vysadit eculizumab. Každá z nich měla za sebou již minimálně jeden relaps

onemocnění. Šlo tedy o vysoce rizikové pacientky pro rozvoj preeklampsie či HELLP syndromu bez ohledu na přítomnost aHUS. Jiné kazuistiky matek, které vstupují do gravidity s dobrou renální funkcí a remisí onemocnění naopak dokládají příznivější výsledky.

Transplantace u nemocných s aHUs a renálním selháním a riziko rekurence

Riziko rekurence aHUS v Tx ledvině je vysoké a závisí na typu mutace a rizikovosti nemocného. Proto k ní není možné přistoupit bez podrobné znalosti genetického vyšetření či určení výše titru anti-CFH protilátek (> 2 000 AU/ml se považuje za rizikové). Rizikovost pro rekurenci lze rozdělit do tří kategorií: nízkou, středně a vysoce rizikovou skupinu a podle rizikovosti se řídí i případná léčba (tab. 4). Z hlediska dárce se preferuje živý, ale geneticky nepříbuzný dárce či dárce kadaverózní. Dárcovství od geneticky příbuzných jedinců je velmi problematické, jelikož ani podrobné genetické vyšetření nemůže vyloučit přítomnost dosud neidentifikované mutace na jiném místě genu, který běžně nevyšetřujeme (např. v intronických oblastech) a měli bychom se mu snažit vyhnout.

Tx jater či kombinovaná Tx jater a ledviny (v případě renálního selhání) představuje kauzální léčbu těžkých forem aHUS spojených s mutacemi v komplementárních faktorech syntetizovaných v játrech (CFH, CFB, C3). Kazuistická sdělení v minulosti popisovala v řadě případů úmrtí pacientů či selhání funkce jaterního štěpu. Práce z poslední doby zahrnující 20 nemocných s mutacemi v CFH (18 pacientů), CFB (1 nemocný) a C3 (1 nemocný), kteří podstoupili kombi-

novanou Tx jater a ledviny (19 jedinců) či samotnou Tx jater (1×), ukázala, že výsledky této léčby nejsou tak špatné (28). 16/20 nemocných bylo kompletně vyléčeno z aHUS s dobrou funkcí obou graftů, 3 nemocní zemřeli a u jednoho došlo k selhání renálního štěpu z důvodu perioperační hemodynamické nestability. Všichni 3 nemocní, kteří zemřeli, byli před Tx v dlouhodobém dialyzačním programu a příčinou úmrtí byly cévní komplikace. Tato léčba by měla být rezervovaná pro pacienty s těžkým a relabujícím průběhem onemocnění, kde není možné dlouhodobě podávat eculizumab anebo kde není k dispozici.

aHUS registr

Observační a kazuistická sdělení o různých manifestacích aHUS a jejich léčbě mají velkou důležitou roli a přinášejí cenné informace o tom, jak se onemocnění chová za určitých specifických situací. Existuje již řada národních registrů (francouzský, italský a další), které se snaží sbírat informace jak od dětských, tak dospělých nemocných a využít je zejména pro lepší pochopení patogeneze onemocnění, ale také pro predikci jeho dalšího průběhu. Výrazně širším informačním zdrojem jak pro lékaře, tak pacienty bude mezinárodní registr nemocných s aHUS, který vznikl v roce 2012 a který shromažďuje velké množství dat o nemocných s touto diagnózou (29). Jde o observační, neinterventní sledování nemocných ze skoro 20 zemí a mnoha center. Vyjma základních demografických dat se v registru sbírají informace o průběhu choroby, o léčbě, jejím ukončení, o počtu relapsů onemocnění a jejich následné léčbě. Shromažďují se zde i data o typu mutace, podstoupení transplantace ledviny a případné rekurenci onemocnění. Registr zahrnuje jak dospělé (asi 60 % registrovaných), tak dětské pacienty. V současné době je v registru zahrnuto více než 1 200 nemocných a svými daty do něj přispívá i několik českých center.

Závěr

I když se celková prognóza onemocnění v posledních letech zlepšila, zůstává aHUS smrtelným onemocněním. Mortalita dětí v souboru nemocných z Francie byla v prvním roce onemocnění 6,7 %; u dospělých to bylo 0,8 % (30). Riziko těžkého poškození ledvin či dokonce ESRD zůstává naopak vyšší u dospělých

(46 vs. 16 %, $p < 0,001$), pravděpodobně v důsledku již preexistujícího renálního poškození či fyziologického úbytku fungujících glomerulů. Atypický HUS není jen onemocněním dětí,

postihuje stejně tak i dospělé a na to je třeba pamatovat. Léčba musí být zahájena bezprostředně po stanovení diagnózy. Eculizumab nyní představuje velmi účinnou a bezpečnou

léčbu a je možné ho podat u všech nemocných s aHUS bez ohledu na to, zda u nich prokážeme, či nikoli, genetický původ onemocnění.

LITERATURA

- Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1035–1050.
- Hirt-Minkowski P, Dickenmann M, Schifferli JA. Atypical hemolytic uremic syndrome: update on the complement system and what is new. *Nephron Clin Pract* 2010; 114: c219–c235.
- Loirat Ch, Frémeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2011; 6: 60.
- Zipfel PF, Edey M, Heinen S et al. Deletion of complement factor H-related genes CFHR1 and CFHR3 is associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *PLoS Genet* 2007; 3: e41.
- Józsi M, Licht Ch, Strobel S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* 2008; 111: 1512–1514.
- Caprioli J, Castelletti F, Buccioni S, et al. Complement factor H mutations and gene polymorphisms in haemolytic uraemic syndrome: the C-257T, the A2089G and G2881T polymorphisms are strongly associated with the disease. *Human Molecular Genetics* 2003 12(24): 3385–3395.
- Nakanishi I, Moutabarrik A, Hara T, et al. Identification and characterization of membrane cofactor protein (CD46) in the human kidneys. *Eu J Immunol* 1994; 24: 1529–1535.
- Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, et al. Thrombomodulin mutations in atypical haemolytic-uremic syndrome. *N Eng J Med* 2009; 361: 345–357.
- Strobel S, Hoyer PF, Mache CJ, et al. Functional analyses indicate a pathogenetic role of factor H autoantibodies in atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 136–144.
- Lemaire M, Frémeaux-Bacchi V, Schaefer F, et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet* 2013; 45: 531–536.
- Bruneau S, Néel M, Roumanina LT, et al. Loss of DGKE induces endothelial cell activation and death independently of complement activation. *Blood* 2015; 125(6): 1038–1046.
- Marinozzi MCh, Vergoz L, Rybkine T, et al. Complement factor B mutations in atypical hemolytic uremic syndrome-disease-relevant or benign? *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 2053–2065.
- Loirat Ch, Frémeaux-Bacchi V. Haemolytic uremic syndrome recurrence after renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2008; 12: 619–629.
- Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussa R, et al. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7: 23–35.
- Ruggenti P. Post-transplant hemolytic-uremic syndrome. *Kidney Int* 2002; 62: 1093–1104.
- Loirat Ch, Fakhouri F, Ariceta G, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016; 31(1): 15–39.
- Schmidt K, Peine S, El-Housseini Y, et al. Treatment of atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic microangiopathies: a focus on eculizumab. *Am J Kidney Dis* 2013; 61(2): 289–299.
- Legendre CM, Licht C, Muus P, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368: 2169–2181.
- Licht Ch, Greenbaum LA, Muus P, et al. Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int* 2015; 87: 1061–1073.
- Vilalta R, Al-Akash S, Davin J, et al. Eculizumab therapy for pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome: efficacy and safety outcomes of a retrospective study [abstract 1155]. *Haematologica* 2012; 97(Suppl. 1): 479.
- Greenbaum LA, Fila M, Ardissino G, et al. Eculizumab is safe and effective treatment in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 2016; 89: 701–711.
- Vande Walle J, Delmas Y, Ardissino G, et al. Improved renal recovery in patients with atypical hemolytic uremic syndrome following rapid initiation of eculizumab treatment. *J Nephrol* 2016, e-pub: doi:10.1007/s40620-016-0288-3.
- Ardissino G, Testa S, Possenti I, et al. Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: a report of 10 cases. *Am J Kidney Dis* 2014; 64(4): 633–637.
- Wetzels JFM, van de Kar NCAJ. Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome – letter to the editor. *Am J Kidney Dis* 2015; 65(2): 342.
- Fakhouri F, Fila M, Provôt F, et al. Pathogenetic variants in complement genes and risk of atypical hemolytic uremic syndrome relapse after eculizumab discontinuation. *Clin J Am Soc Nephrol* 12, published on October 31, 2016, as doi: 10.2215/CJN.06440616.
- Fakhouri F, Roumenina L, Provôt F, et al. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 859–867.
- Servais A, Devillard N, Frémeaux-Bacchi V, et al. Atypical haemolytic uremic syndrome and pregnancy: outcome with ongoing eculizumab. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 2122–2130.
- Saland J. Liver-kidney transplantation to cure atypical HUS: still an option post-eculizumab? *Pediatr Nephrol* 2014; 29: 329–332.
- Licht Ch, Ardissino G, Ariceta G, et al. The global aHUS registry: methodology and initial patient characteristics. *BMC Nephrology* 2015; 16: 207.
- Frémeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, 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.