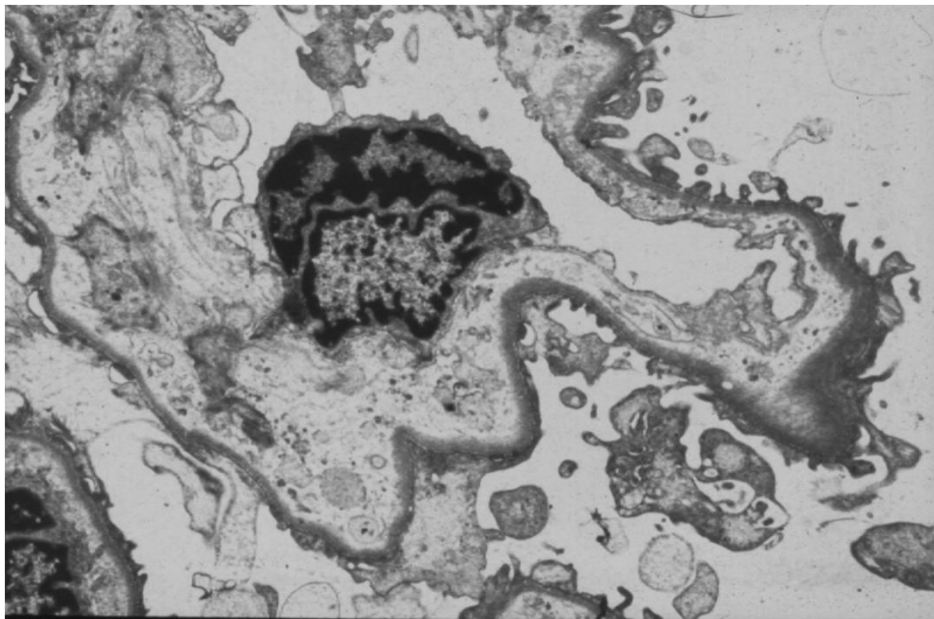


# Тромботическая микроангиопатия – современный взгляд

Джузеппе Ремуцци

*Санкт-Петербург, 9 июня 2012г.*

1



2

## дГУС - распространенность



Мультисистемное заболевание с микроангиопатической гемолитической анемией и тромбоцитопенией, с перимущественным, но не исключительным поражением почек

### МОЖЕТ ЛИ ТТП БЫТЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВАН ОТ ГУС?

Дифференцирующие критерии (из книг)	ГУС	ТТП
• Возраст	Детский	Взрослый
• Вовлечение органов	Почки	Разные органы
• Осложнения	Почечная недостаточность	Неврологические симптомы
• Прогноз	Благоприятный	Неблагоприятный

Ни один из них не является отличительным

	ГУС	ТТП
• Возраст	Взрослый Giromini, 1969 Shapiro, 1970 Utting, 1973 Karlsberg, 1977 Morel Maroger, 1979 Ponticelli, 1980 Cascoub, 1987 Prakash, 1987	Новорожденные и маленькие дети Amorosi, 1966 Monnens, 1967 Kennedy, 1980
• Вовлечение органов	Разные органы Gianantonio, 1983 Fong, 1982	
• Осложнения		Почечная недостаточность Dunea, 1966 Amorosi, 1966 Ridolfi, 1981 Eknoyan, 1986
• Прогноз	Может быть неблагоприятным при неклассических формах Drummond, 1985	

4 Один и тот же больной классифицировался как страдающий ГУС или ТТП во время двух различных эпизодов обострения

Shumway, 1957  
Mac Whinney, 1962  
Mettler, 1969

*Диагноз этого заболевания, которое я по  
прежнему назвал бы “ГУС/ТТП”,  
должен быть поставлен во всех  
случаях, когда имеется острая  
гемолитическая анемия  
микроангиопатического типа,  
ассоциированная с тромбоцитопенией и  
любой степенью почечного  
повреждения*

*Remuzzi et al., Kidney International*

**1987**

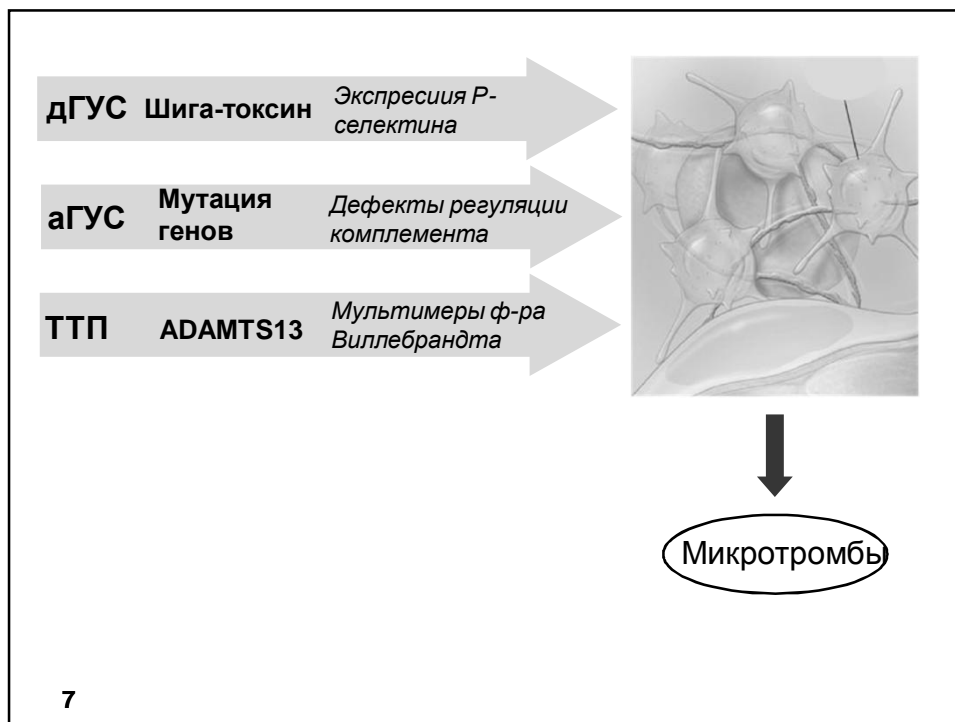
5

*Термина ГУС/ТТП следует  
избегать, поскольку он скрывает  
различия между отдельными  
типами тромботической  
микроангиопатии*

*Tsai et al. Throm Haem*

**2003**

6



**1982** Определенные штаммы E. Coli, уникальные по своим ферментным свойствам, продуцируют Шига-подобные цитотоксины  
O'Brien et al., *J Infect Dis*

**1983** E. coli O157:H7 продуцирует Шига-подобный токсин/веротоксин и вызывает геморрагический колит  
Riley et al., *N Engl J Med*

**1983** E. coli O157:H7 ассоциирована со спорадическими случаями классического ГУС у детей  
Karmali et al., *Lancet*

8



**1927** Особый тип *Bacterium coli*, биохимически уникальный по своим ферментным свойствам, ассоциирован с эпидемической диареей у детей

Adam et al., *Jahrb F Kinderh*

**1947** *E. coli* 0111 B4 выявляется в фекалиях более чем у 90% детей с эпидемической диареей, но никогда не выявляется в крови

Giles et al., *Arch Dis Child*  
Bray et al., *J Path Bact*

Фильтрующийся агент вызывающий диарею у телят, и смертельный для мышей, выделен из стула детей с эпидемической диареей

Lembke et al., *Am J Publ Health*  
Light et al., *Am J Publ Health*

**1955** Наиболее тяжелые случаи эпидемической диареи, вызванной *E. coli* 0111 B4 ассоциированы с пурпурой, анурией и неврологическими симптомами

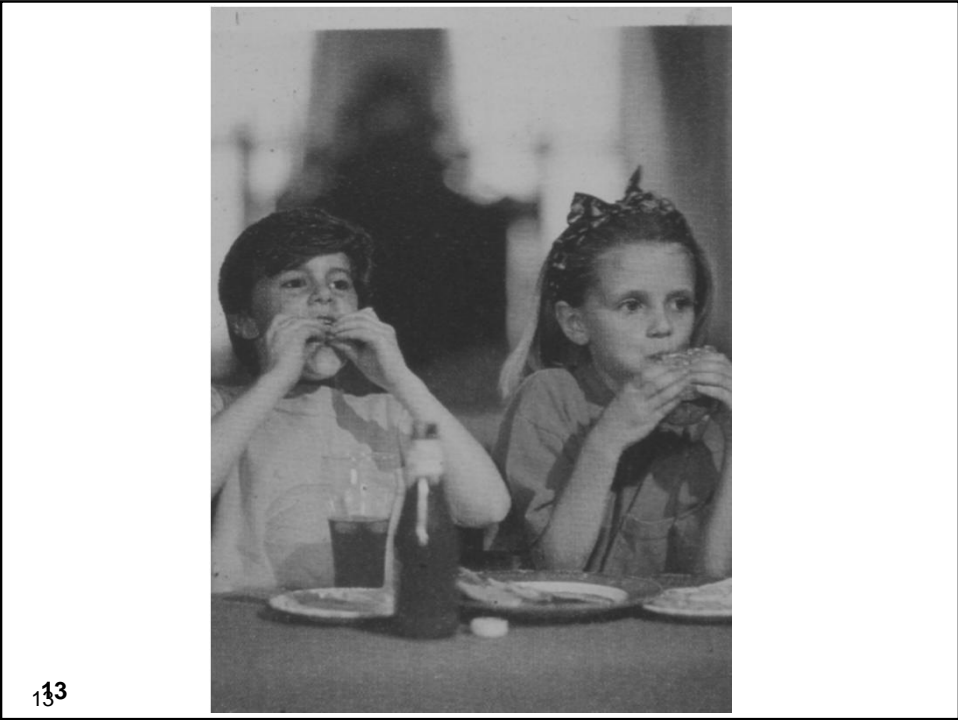
Аутопсийные изменения включают тромбозы капилляров и прекапиллярных артериол и окклюзию клубочков фибриновыми тромбами

**10**

Belnap et al., *J Pediat*  
McKay et al., *Archiv Pathol*



*Энтерогеморрагическая  
E. coli обычно не  
вызывает заболевание у  
скота, хотя  
колонизирует кишечник*



133

**The New York Times**  
 SATURDAY, AUGUST 16, 1997

**5 Million Hamburger Patties  
 May Be Tainted, U.S. Warns**

By DAVID STOUT

WASHINGTON, Aug. 15 — The Agriculture Department issued a far broader alert about tainted hamburger today, warning that about five million patties sold across the country may have been contaminated with potentially deadly E. coli bacteria.

Agriculture Department inspectors reviewed the records of the company's Nebraska plant, it found that more than 1.2 million pounds of frozen quarter-pound patties might be tainted.

Mr. Almontree said that 18 people were sickened in Colorado from the

Но когда инспекторы департамента Сельского Хозяйства изучили записи компании Nebraska plant, оказалось, более 1.2 миллионов фунтов замороженных четверть-фунтовых котлет могли быть заражены

14

# The New York Times

Copyright © 2002 The New York Times NEW YORK, FRIDAY, SEPTEMBER 27, 2002 \$1 beyond the greater New York metro



## Inspected by No. 1

President Fidel Castro examined an American hamburger yesterday at Cuba's first exhibition in four decades of food products from the United States. He called for "fair trade" between the two nations. Page A6.

15



16



## Вспышка ГУС в Японии

*Sakay City (12-14 Июля 1996)*

> 6,000 школьников с острым энтероколитом, вызванным энтерогеморрагической *E. coli* O157:H7

---

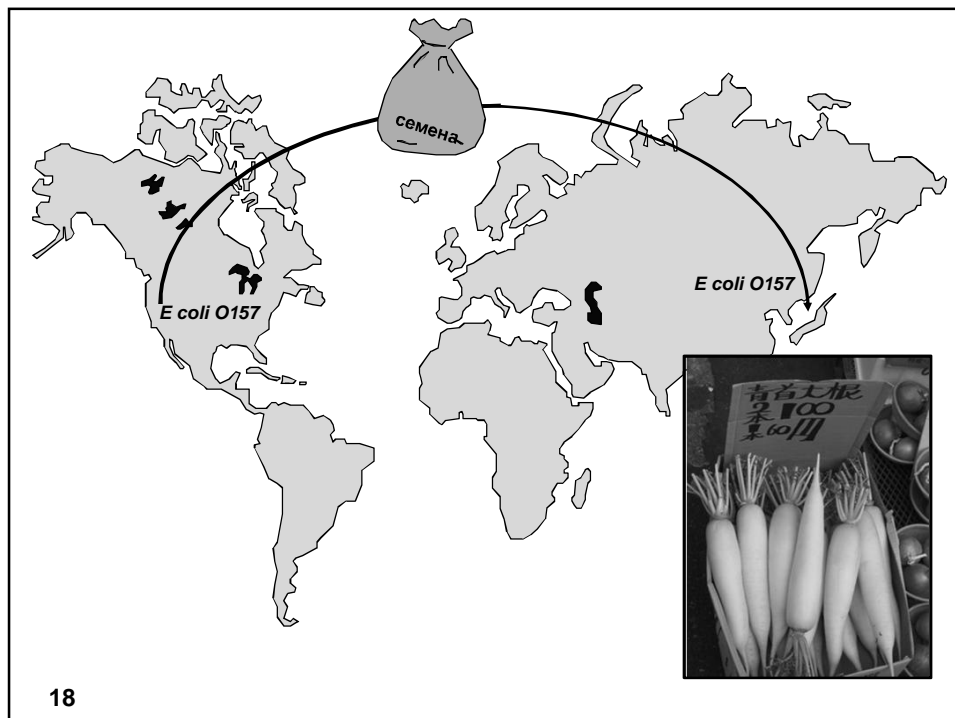
Госпитализировано детей	629
- ГУС	68*
- умерло	4
- энцефалопатия, внутримозговые кровоизлияния	2

---

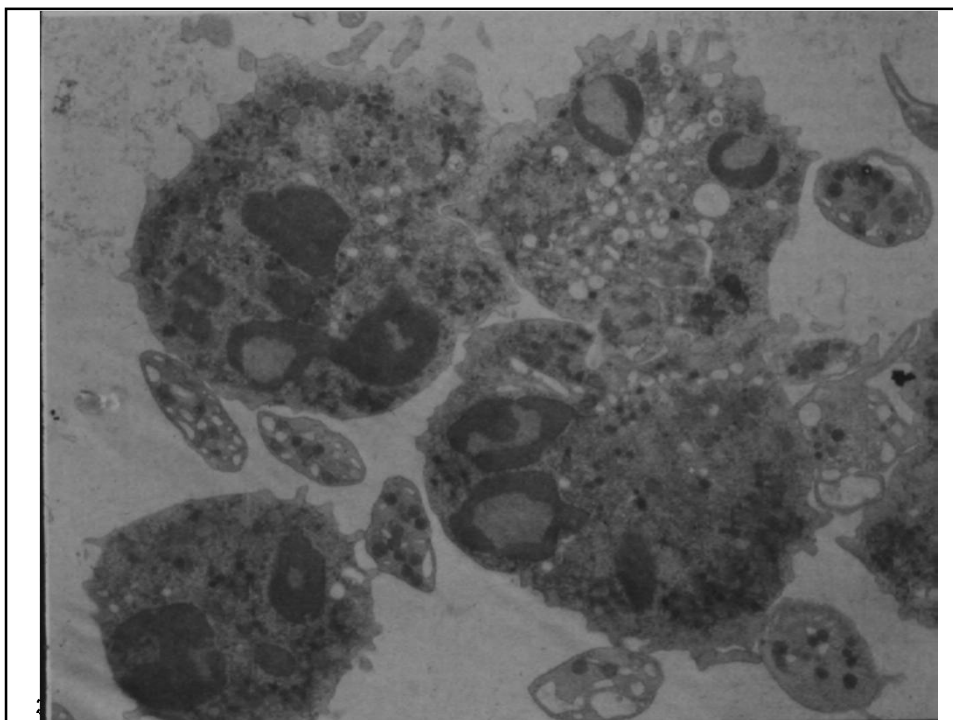
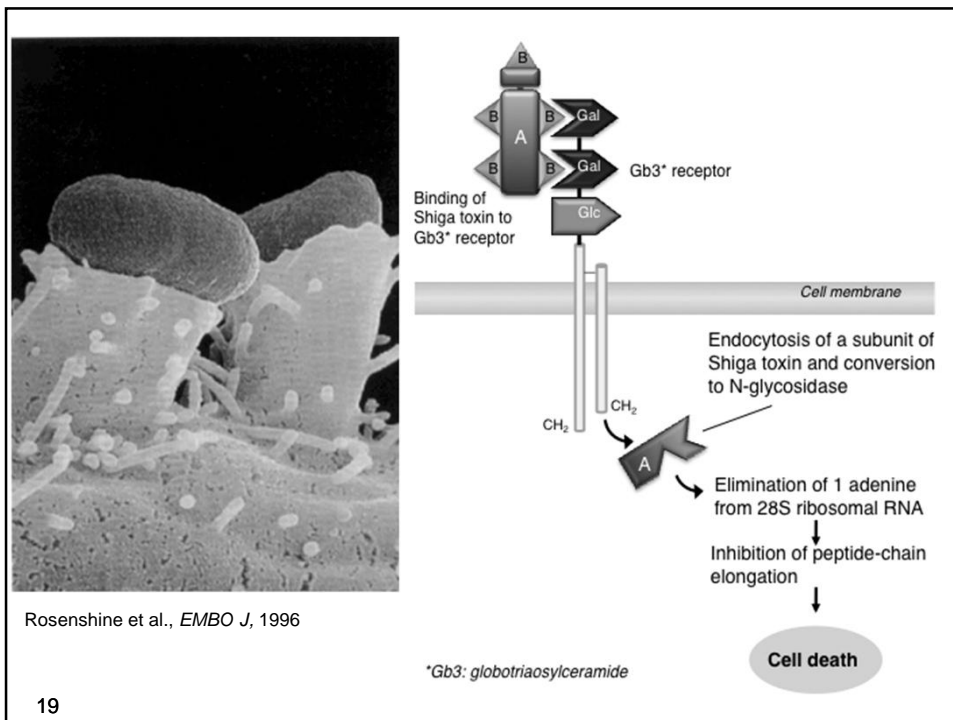
\* Включая близнецов, леченных гемодиализом (Тромбоциты 20,000-30,000/mm<sup>3</sup>)

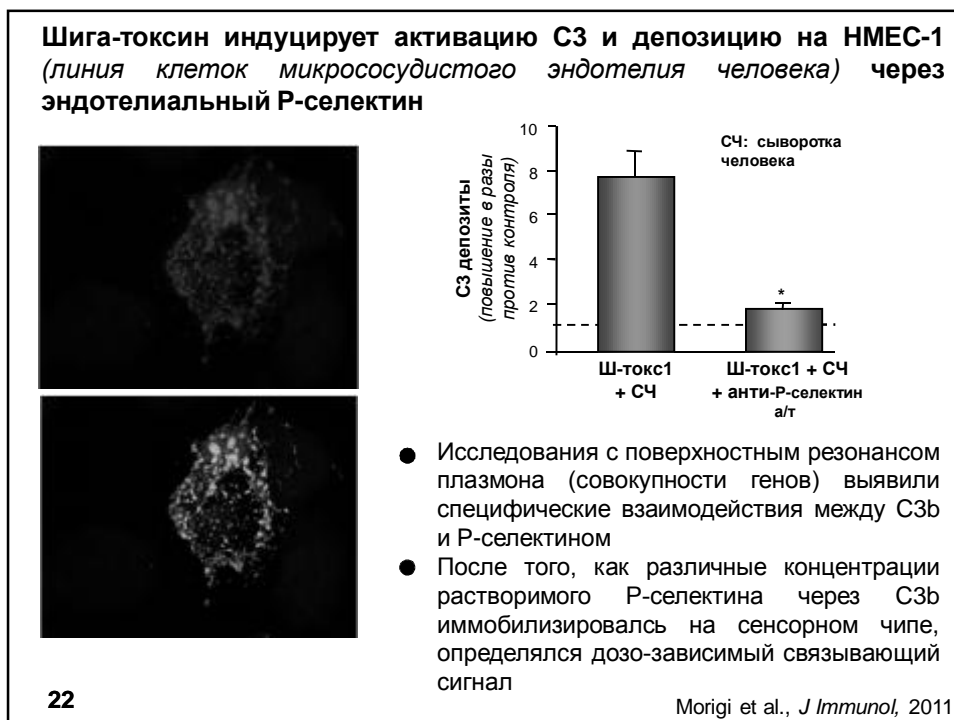
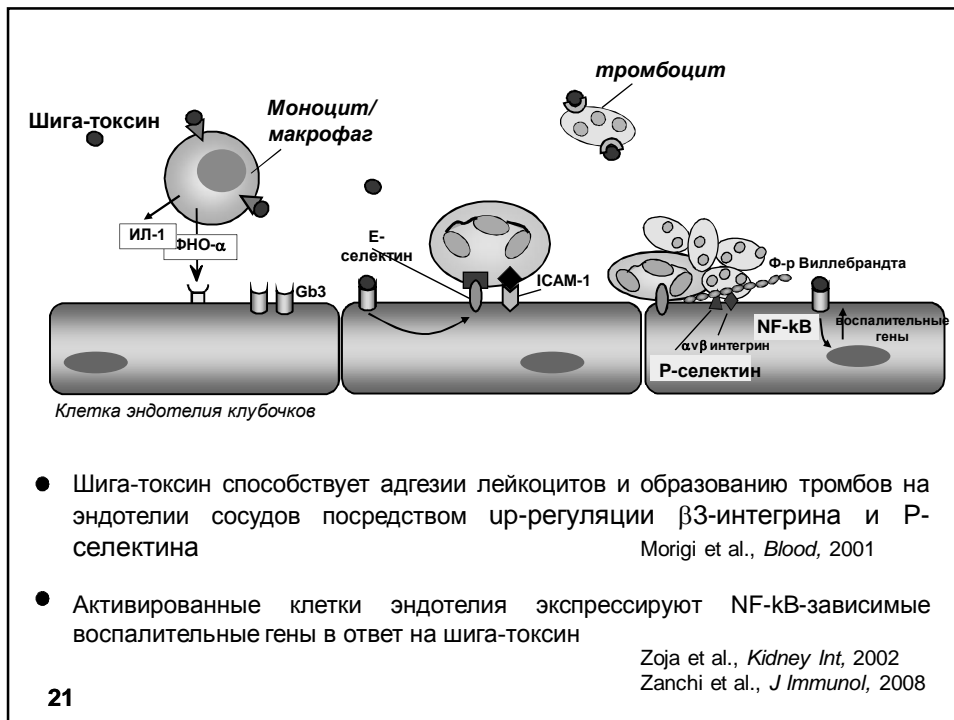
*Бактерия была выделена из рассады белой редьки, имелась связь с тремя новыми случаями, наблюдавшимися в Нагойе и Йокагаме: идентичная по генотипу *E. coli* O157 была обнаружена в рассаде и у заболевших пациентов*

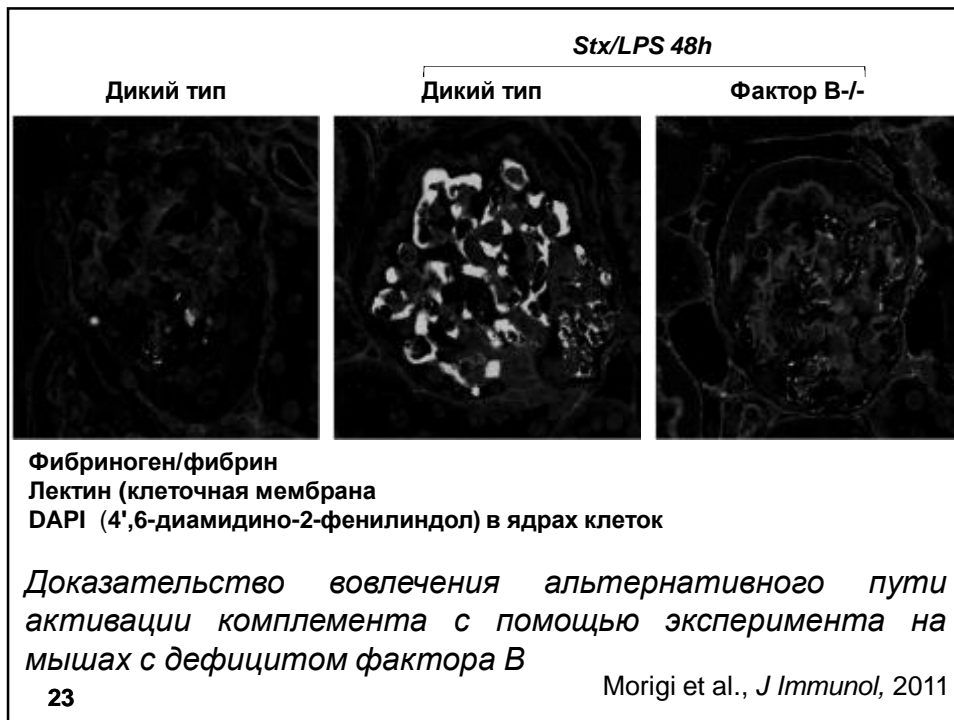
17



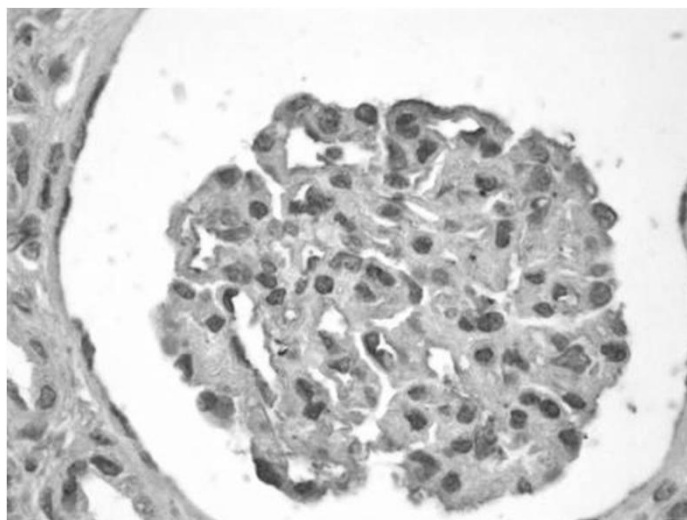
18



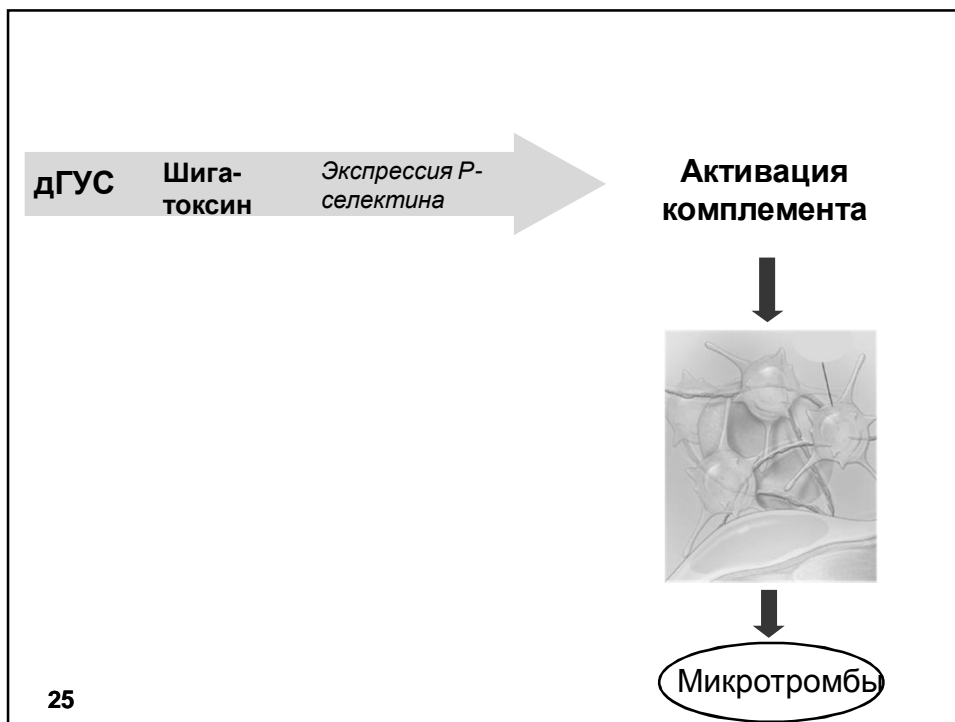




### Отложение С3 в почках при ГУС, вызванном Шига-токсином



24





27

www.reuters.com May 26, 2011

**Огурцы из Испании могут быть источником E.coli, говорят немцы**

*The Telegraph* May 30, 2011

**Путешествие «огурцов-убийц» из Испании в Германию**

*theguardian* May 31, 2011

**Германия признает, что испанские огурцы не ответственны за вспышку E coli**

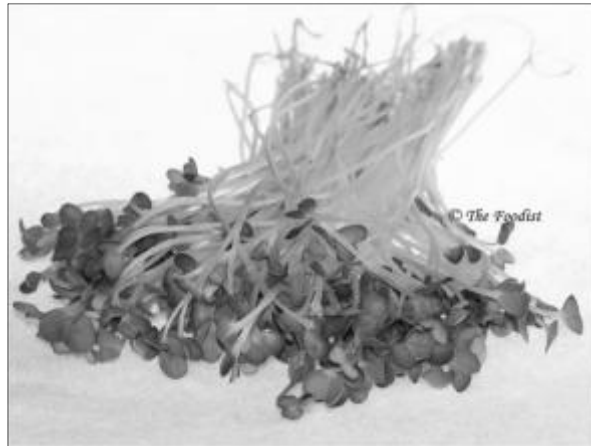
28

**The New York Times**

June 10, 2011

## Германия заявляет, что вероятный источник E. Coli – рассада бобовых

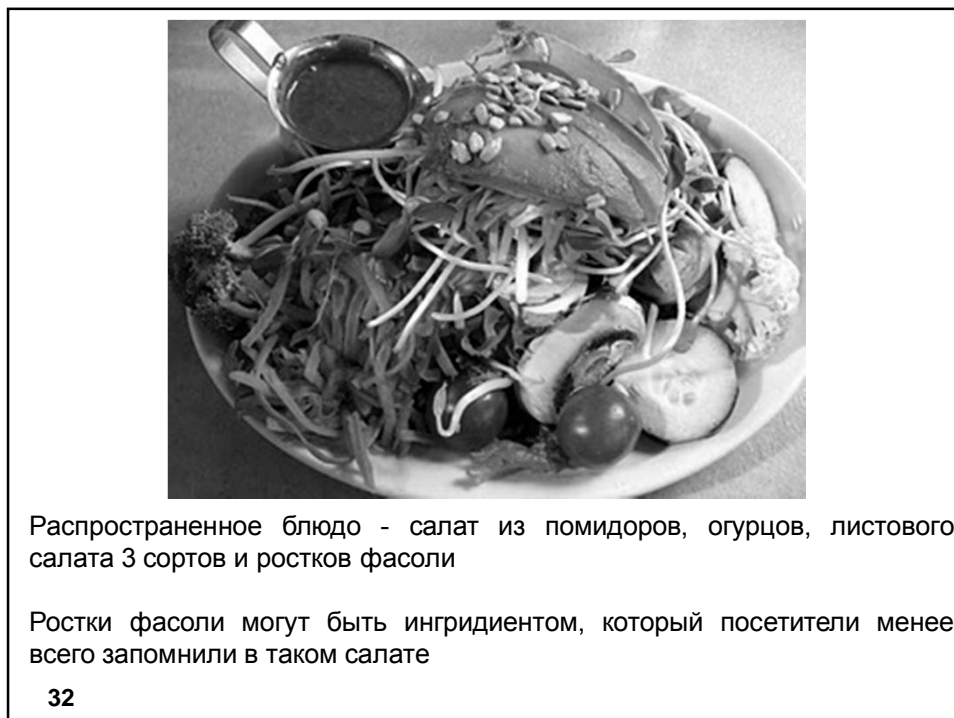
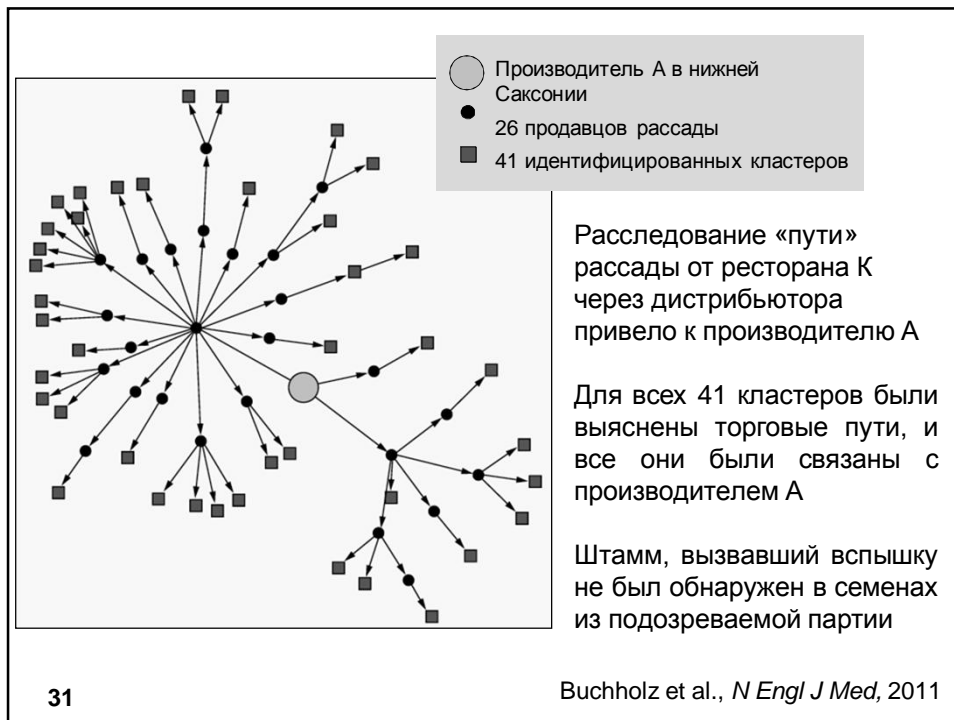
By ALAN COWELL



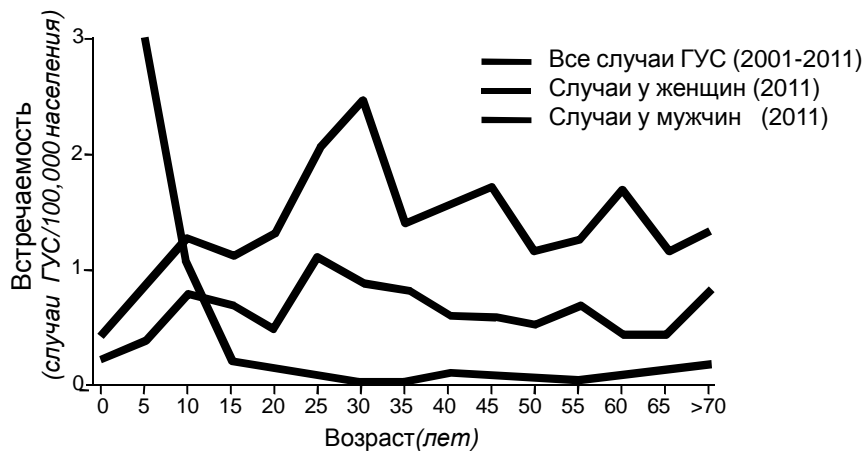
29



30







Большинство случаев ГУС имели место чаще у взрослых чем у детей, с преобладанием среди женщин

333

Frank et al., *N Engl J Med*, 2011

## The New York Times

June 22, 2011

### Необычные свойства штамма E. Coli в Германии

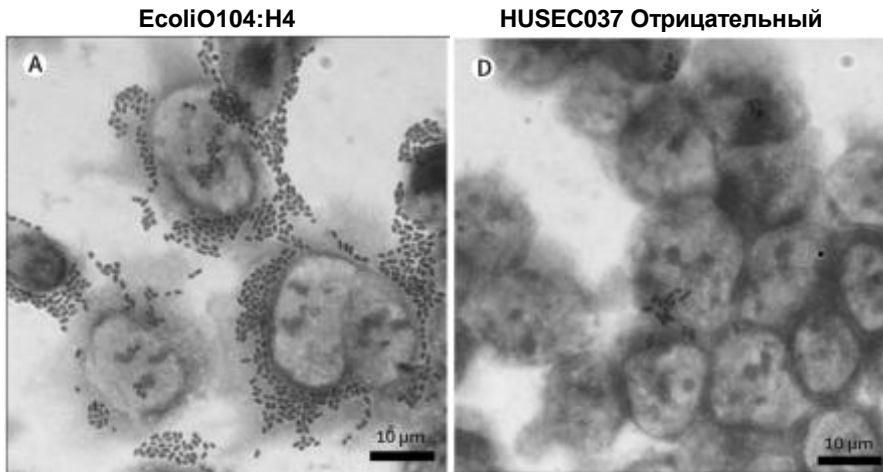
By GINA KOLATA

Бактерии прикрепляются к поверхности по типу «кирпичной кладки».

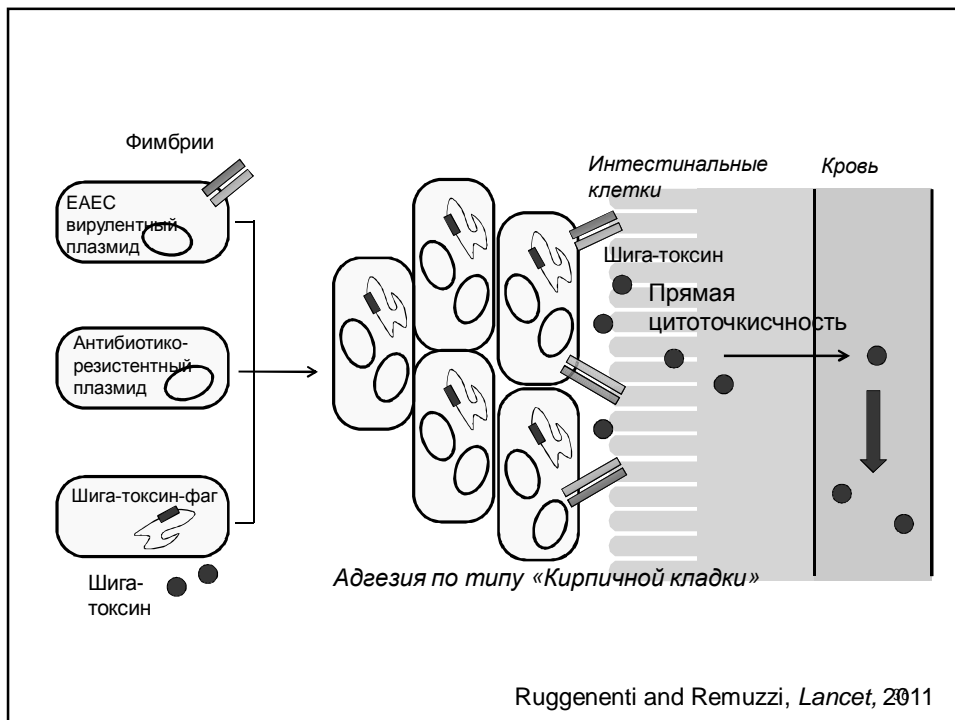
Это специфический феномен «Если вы это увидите, вы уже никогда этого не забудете» - говорит доктор Карш

34

**Усиленная адгезия штамма к кишечному эпителию может облегчать системную адсорбцию шига-токсина и объясняет быстрое развитие ГС**



Агрегационная адгезия к культуре эпителиальных клеток тонкого кишечника, так называемая «кирпичная кладка»  
 35 Bielaszewska et al., *Lancet*, 2011



*Обычно, энтероагрегативная E coli O104:H4 является возбудителем «диареи путешественников», эпидемической диареи у детей и хронической диареи у ВИЧ-инфицированных пациентов. EAEC (энтероагрегативная E coli) определяется как E coli, которая демонстрирует специфическую агрегативную адгезию к культуре клеток по типу «кирпичной кладки»*

*E. coli O104:H4 в германской эпидемии приобрела шигатоксин- кодирующий профаг от пред-существующих патогенов EHEC (энтерогеморрагической E coli)*

*Эта вспышка – не первый пример, когда EAEC приобретает шигатоксин2 лямбда-подобный профаг, но это к сожалению первый пример эпидемии*

37

*Marsden, Remuzzi 2011*

## **Острый гломерулонефрит у детей**

Двое детей и их двоюродный брат – все умерли в возрасте 5 месяцев

*Fison, Arch Dis Child, 1956*

*Clin Nephrol, 1991*

**Успешное лечение атипичного гемолитико-уремического синдрома плазмаферезом**

Robson WL., Leung AK

**Распространенность: 0,07/10,000 человек**

38

## Сесейная ТТП/ГУС

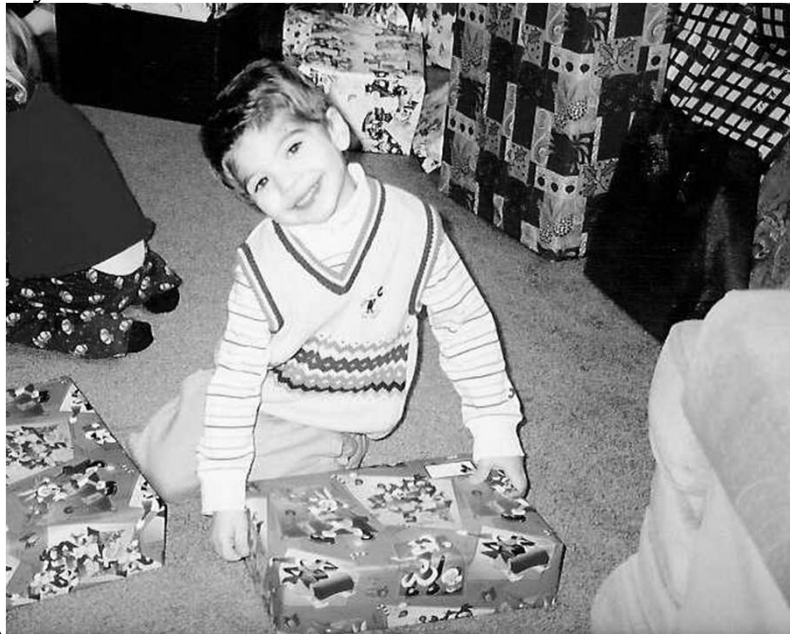
*Определение: не менее двух случаев в одной семье*

	<i>Аутосомно рецессивный</i>	<i>Аутосомно доминантный</i>
Количество семей	43	13
ТХПН	90-100 %	90-100 %
Смертность	65 %	> 90 %

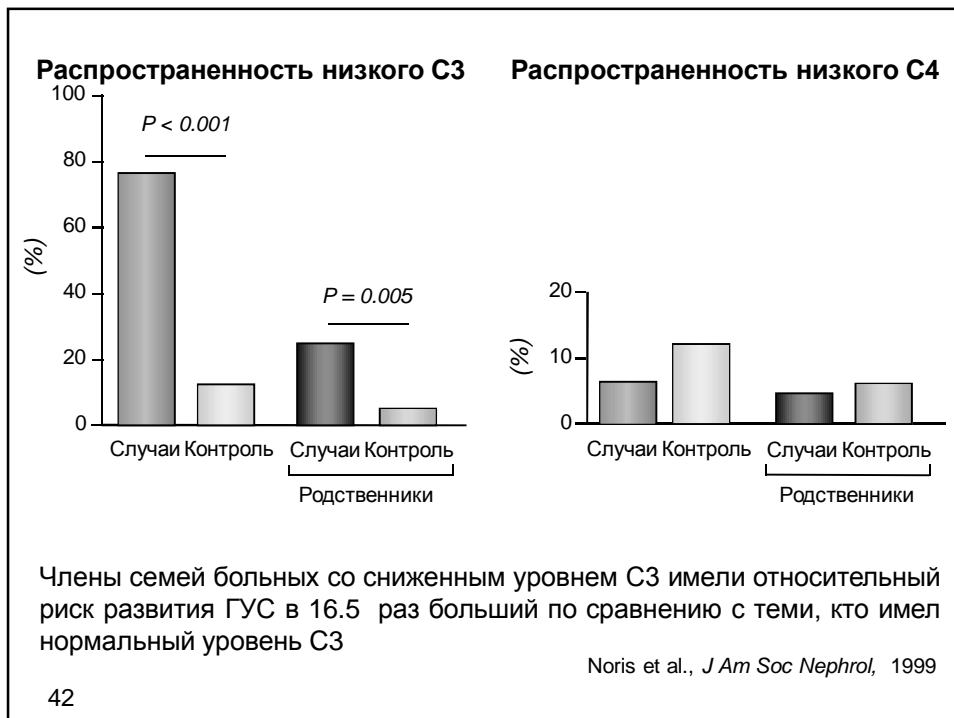
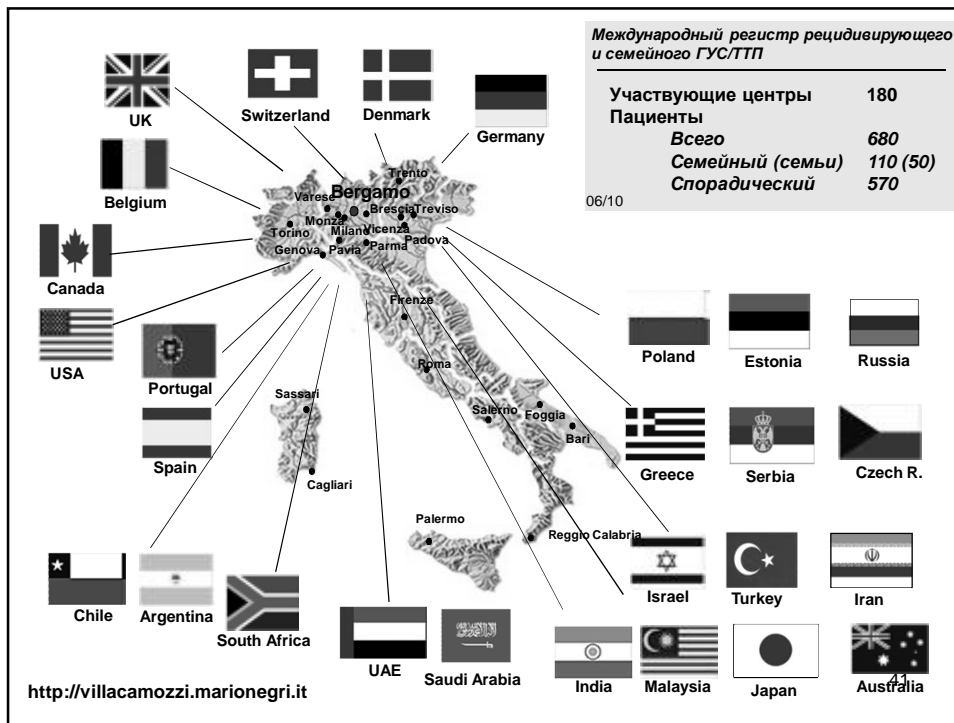
39

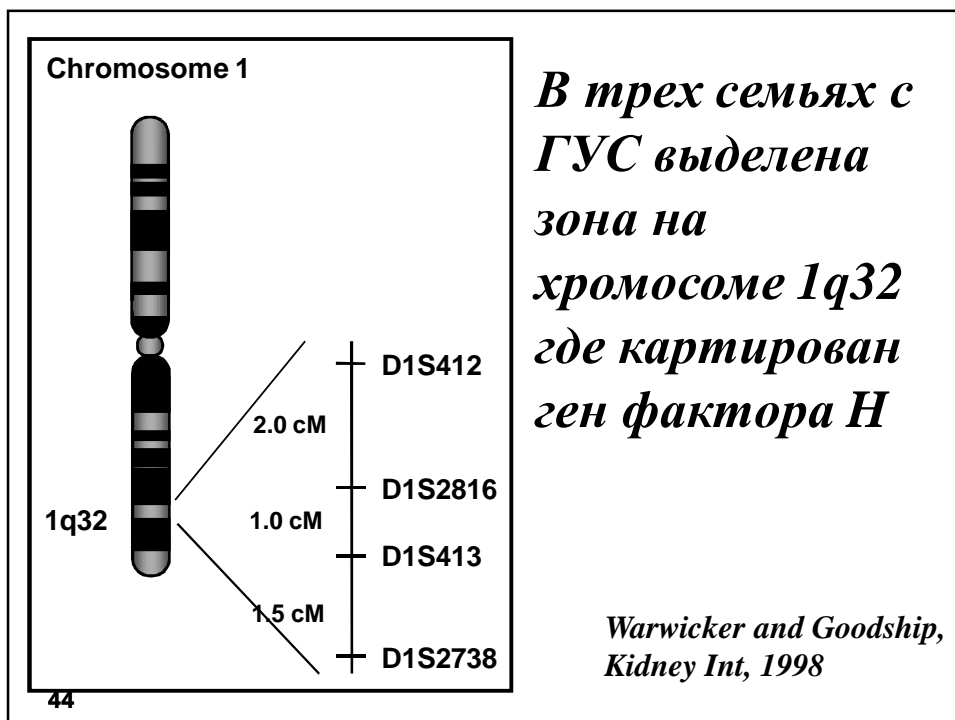
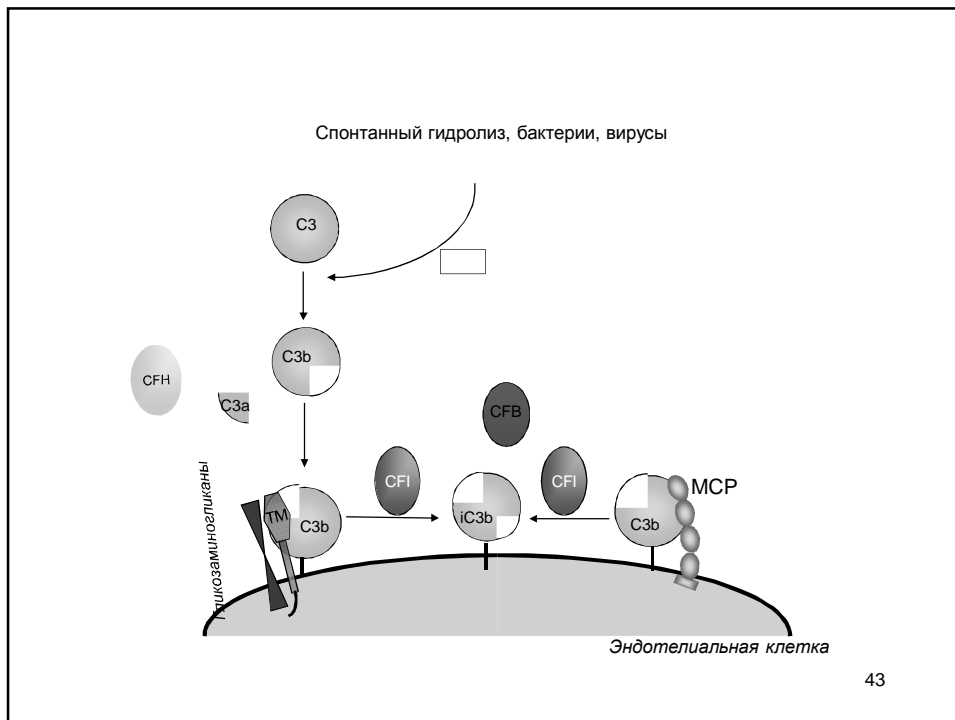
Kaplan BS, Kaplan P, 1992

Рyан



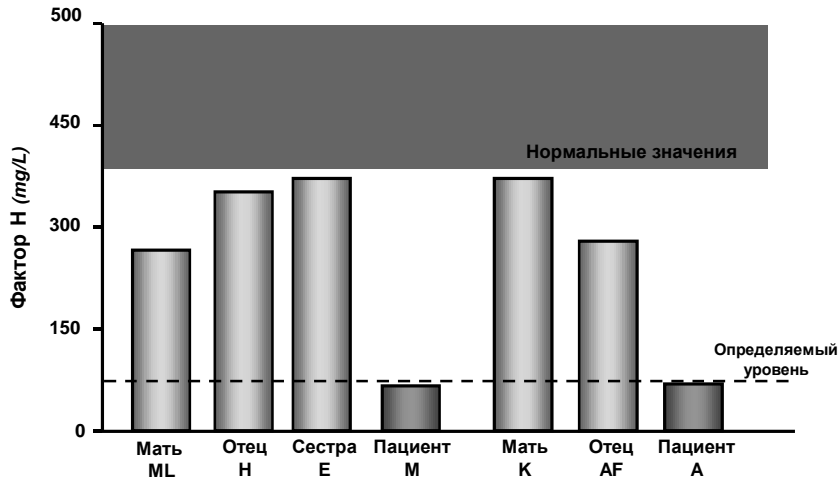
40





**Семейный Гус в бедуинской семье**  
**Фактор Н ниже определяемого уровня у двух больных и составляет 50% от нормы у здоровых родственников**

Семьи из Итальянского Регистра семейного ГУС/ТТП

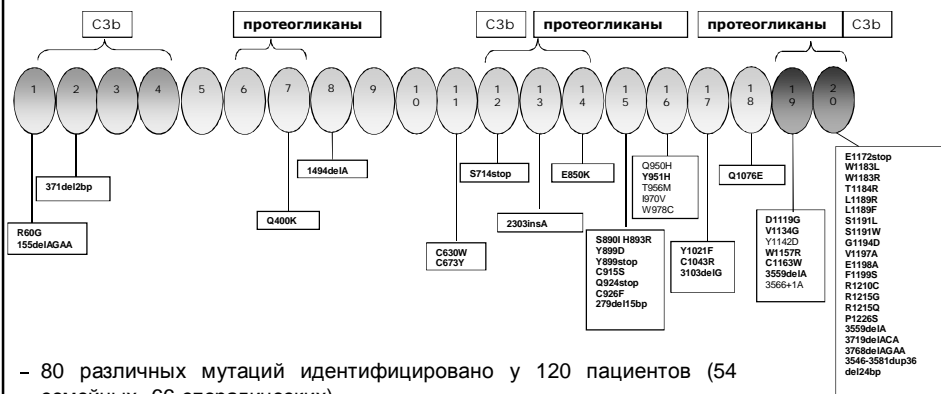


\* Низкий C3 (< 15 mg/dl)

Noris et al., *J Am Soc Nephrol*, 1999

**Опубликованные данные о мутациях фактора Н при ГУС**

- Фактор Н играет ключевую роль в регуляции альтернативного пути активации комплемента
- Фактор Н образуется в основном в печени в виде гликопротеина и циркулирует в плазме в концентрации 50 mg/dl



- 80 различных мутаций идентифицировано у 120 пациентов (54 семейных, 66 спорадических)

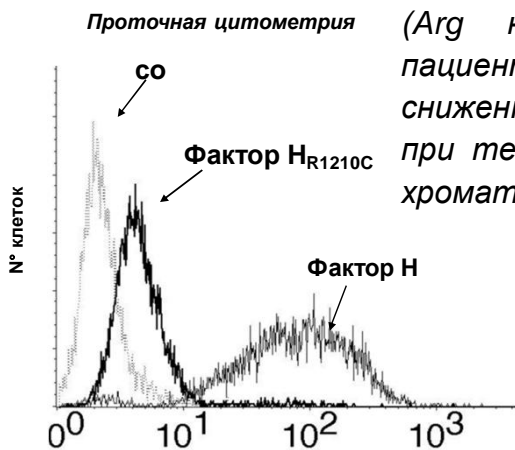
Частота мутаций: семейные формы 40 %  
 спорадические формы 13-17 %

- 90% мутаций являются гетерозиготными

Большинство из них концентрируется в С-терминальном домене

Caprioli et al., *Hum Mol Gen*, 2003  
 Richards et al., *Am J Hum Gen*, 2001  
 Perez-Caballero et al., *Am J Hum Gen*, 2001  
 Neuman et al., *J Med Gen*, 2003  
 Dragon-Durey et al., *J Am Soc Nephrol*, 2004  
 Caprioli et al., *Blood*, 2006  
 Noris et al., *CJASN* 2010

Мутантный белок фактора Н с R1210C (Arg на Cys) или R1215G (Arg на Gly) найденный у пациентов с ГУС имеет сниженное сродство к гепарину при тестировании на гепарин-хроматографических колонках



HUVEC (культура эндотелиальных клеток) инкубированная с рекомбинантным диким типом или с мутированным фактором Н, окрашенным флуоресцирующим антителами к фактору Н

Manuelian et al., *J Clin Invest*, 2003

## Ведет ли одна и та же мутация к одному и тому же фенотипу?

Мутация R1210C фактора Н: начало и исходы

	DD*	DG*	D9*	LU	SE	GS	ZM	BV	BM
<b>Начало (годы)</b>	8	3	6	31	31	35	0.5	43	53
<b>Исходы (1 эпизод)</b>									
полная ремиссия	●			●	●		●		
частичная ремиссия		●				●		●	●
тХПН			●						
смерть									
<b>Рецидивы</b>	●	●			●		●		
<b>Отдаленные исходы</b>									
полная ремиссия	●								
частичная ремиссия		●		●	●	●	●	●	●
тХПН			●						
смерть									
<b>Трансплантация почки</b>									
успешная				●		●			
неуспешная									

\* Эти пациенты имеют также мутацию MCP

Caprioli J. et al., 2006

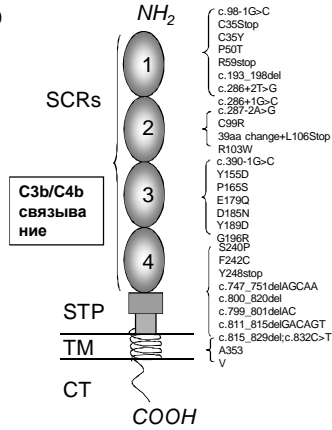
48



## Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation

Marina Noris, Simona Brioschi, Jessica Caprioli, Marta Todeschini, Elena Bresin, Francesca Porrati, Sara Gamba, Giuseppe Remuzzi for the International Registry of Recurrent and Familial HUS/TTP\*

### MCP



*MCP действует как кофактор к I-медицированному расщеплению C3b до неактивного C3b*

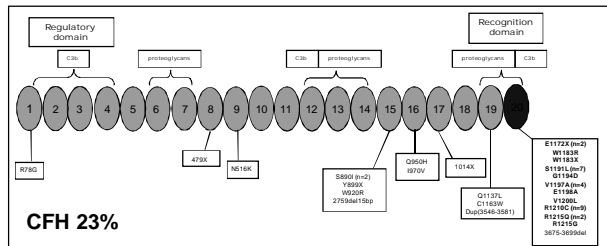
- Частота мутаций: 12,9 %

- Мутации ведут либо к снижению экспрессии белка на клеточной мембране либо к нарушению его ингибиторной активности

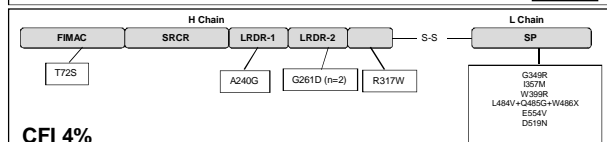
4949

Noris et al, CJASN, 2010

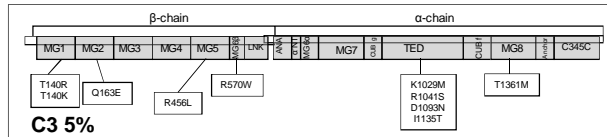
### ДЕФЕКТЫ КОМПЛЕМЕНТА У 272 ПАЦИЕНТОВ



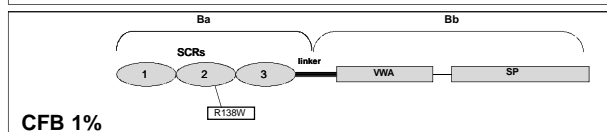
CFH 23%



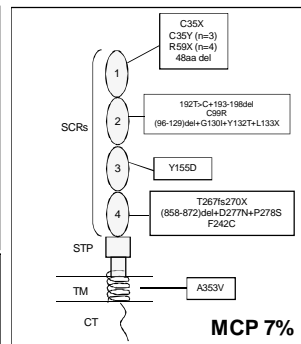
CFI 4%



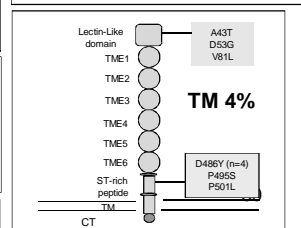
C3 5%



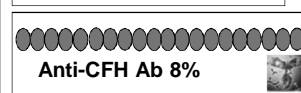
CFB 1%



MCP 7%



TM 4%



Anti-CFH Ab 8%

### **Gennaio 2001**



- Dall'Ospedale italiano di Buenos Aires viene segnalato al Centro di Informazione per le Malattie Rare il caso di un bambino del Paraguay di 1 anno e mezzo affetto dall'età di 6 mesi da una forma genetica di Sindrome Emolitico Uremica
- Il fratello era morto per la stessa malattia all'età di 7 mesi
- I genitori erano sani
- L'analisi del suo DNA evidenzia una nuova mutazione nel gene che codifica per il fattore H

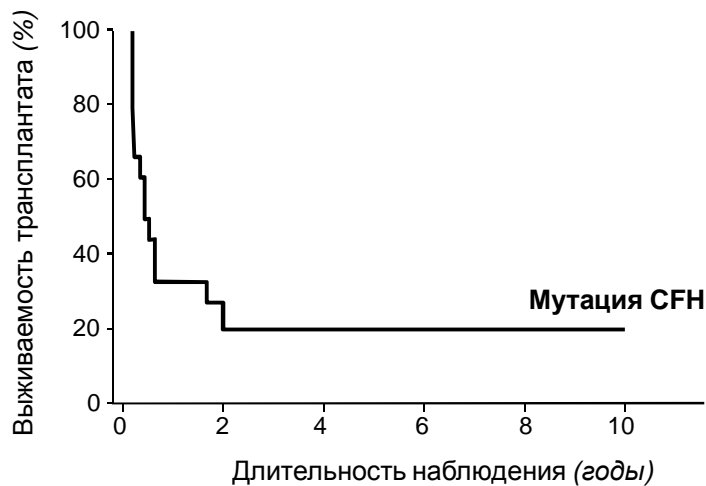
51

### **Данные при поступлении**

- Нормальные значения C3, C4, и фактора H  
Повышены фрагменты C3d и отношение C3d/C3
- Почечная функция ранее поддерживалась ПД но два последних эпизода перитонитов и отсутствие сосудистого доступа привело к невозможности дальнейшего продолжения диализа
- Почечный трансплантат прекращал функционировать в связи с рецидивом болезни, и ребенок находился перед надвигающимся риском смерти

52

## ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА ПРИ АГУС



53

Данные из интернационального регистра ГУС/ТТП  
Noris, Remuzzi, *Am J Transpl*, 2010

*Kidney International*, 1986

## Recurrence of hemolytic uremic syndrome in renal transplant recipients

DIANE HEBERT, RICHARD K. SIBLEY, and S. MICHAEL MAUER

*Department of Pediatrics, Laboratory Medicine and Pathology, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, Minnesota 55455, USA*

### ИСХОДЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

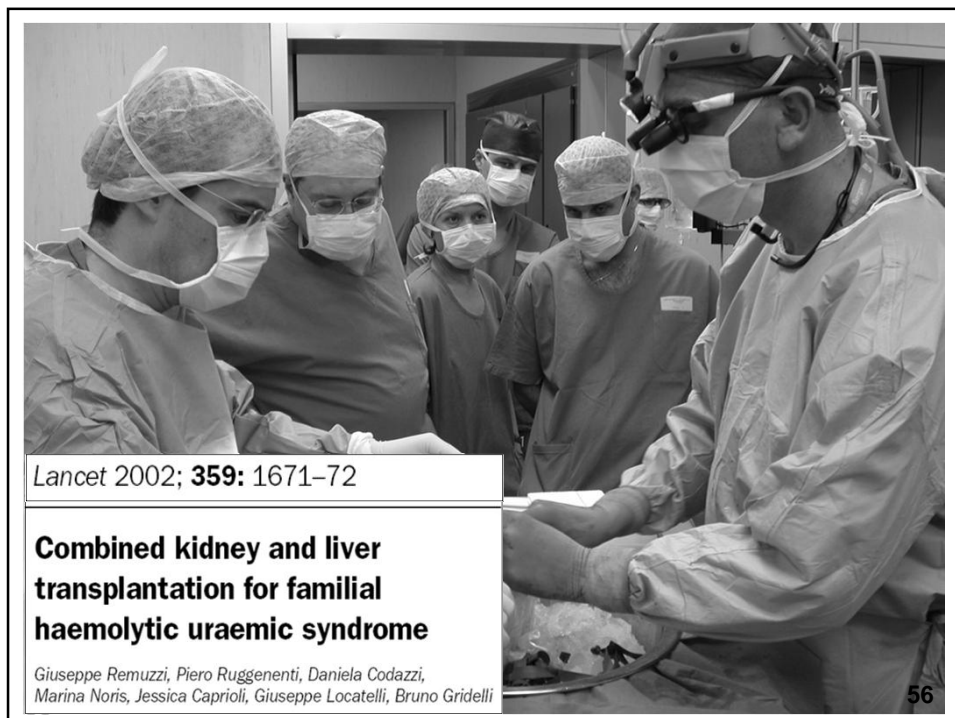
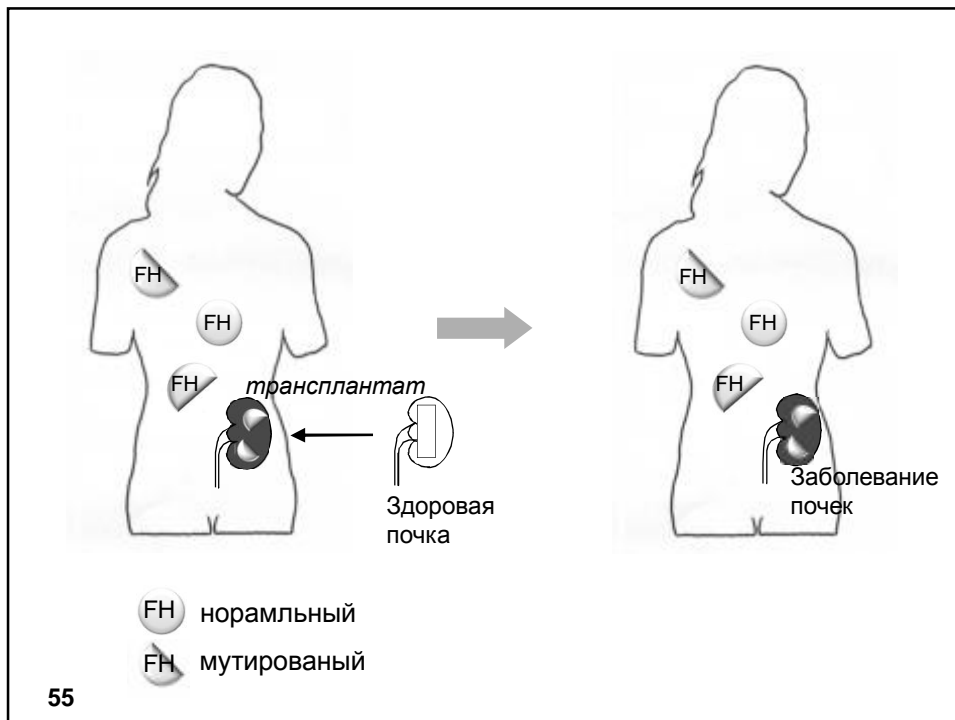
*Потеря почечного трансплантата вследствие рецидива АГУС*

Пациенты с:

- мутацией CFH	12 из 17
- антителами к CFH	0 из 2
- мутацией CFI	4 из 6
- мутацией C3 mutations	3 из 7

Noris et al., *CJASN*, 2010

54



## ЕЩЕ ШЕСТЬ СЛУЧАЕВ

	Возраст	Мутация фактора H
#1 муж	4 мес	V1197A and C973Y
#2 муж	1 год	R1215Q
#3 жен	16 лет	R1215Q
#4 муж	6 лет	S1191L
#5 муж	21 год	R1215Q

- Экстенсивный плазмообмен до и во время трансплантации
- #1 #2 #3 #4 #5 Хорошая функция почек и печени при последующем наблюдении
- Еще одна неопубликованная комбинированная трансплантация: хороший результат

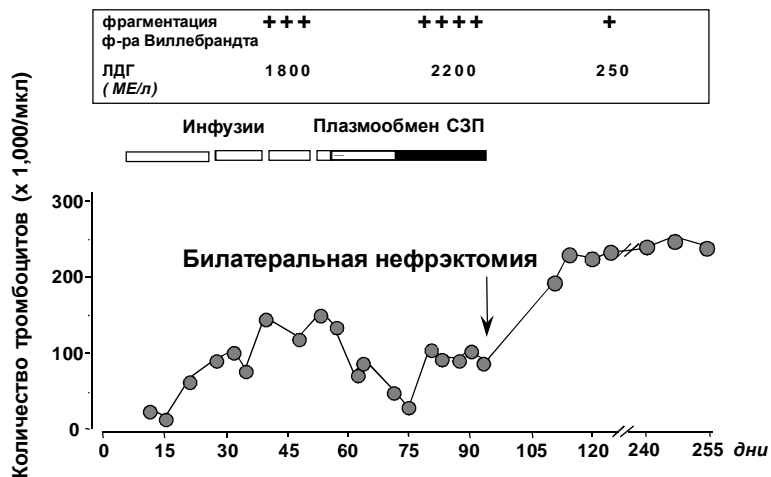
Saland et al., Am J Transplantation 2006  
 Jalanko et al., Am J Transplantation 2008  
 Koskinen et al., Mol Immunol 2008

57

### 26-летняя женщина с синкопальными состояниями, рвотой и диареей

1991

- АД: 220/120 мм рт.ст.
- глазное дно: сужение артерий и геморрагии
- тромбоциты: 27,000/мкл



58

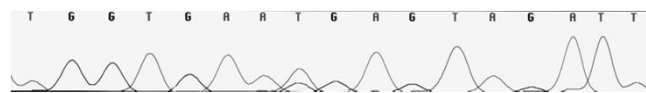
Трансплантация 1998  
Выписка 2003



59

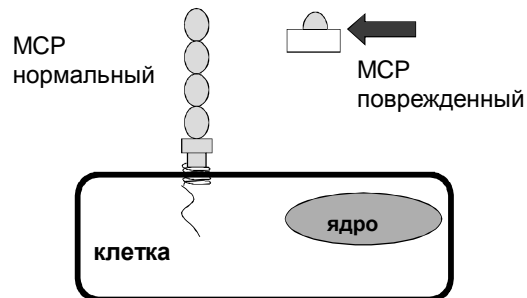
ГУС

2003

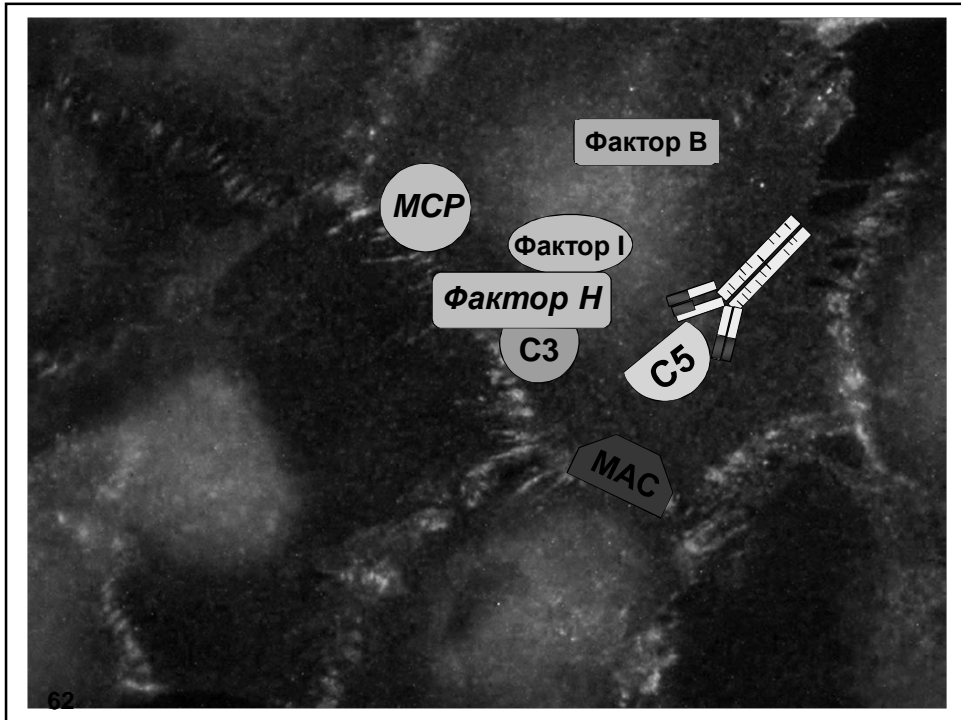
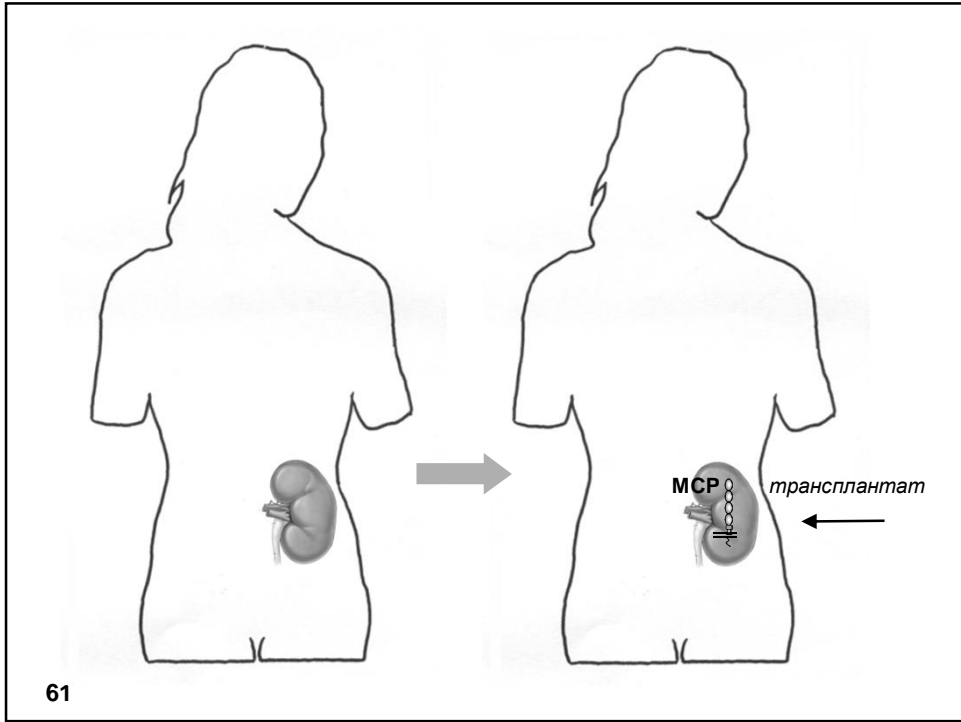


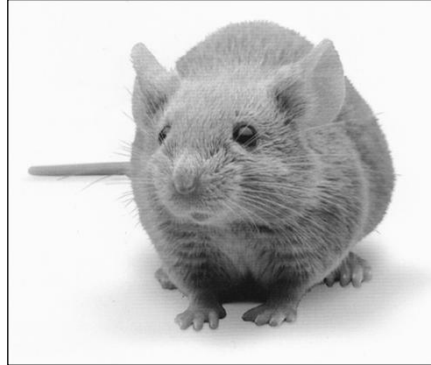
↑  
С218Т

CGA → TGA  
Arg25 → Stop



60





63

## Делеция C5 предотвращает спонтанный аГУС у $Cfh^{-/}$ .FH1Δ6-20

- скрещивание  $Cfh^{-/}$ .FH1Δ6-20 мышей с C5-дефицитными мышами
- Через 4 месяца:
  - ↓ смертности
  - ↑ функции почек
  - ↑ морфологических изменений

Pickering et al Mol immunol, 2010

64





**Эффективность и безопасность Экулизумаба у пациентов с аГУС, резистентных к плазматерапии : исследование II фазы**

17 подростков и взрослых с активной ТМА несмотря на плазматерапию

Отсутствие повторных эпизодов ТМА достигнуто у 15 из 17 пациентов

Улучшение функции почек (по pСКФ) у 11 пациентов

Greenbaum et al, ASN, 2011

**Исследование II фазы Экулизумаба у пациентов с аГУС получающих хронический плазмаобмены/инфузии плазмы**

Отсутствие повторных эпизодов ТМА и прекращение плазматерапии достигнуто у 16 из 20 пациентов получавших лечение в течение 26 недель

Licht et al, ASN, 2011

**Академическое многоцентровое проспективное исследование для оценки эффективности Экулизумаба в предотвращении аГУС после трансплантации почки**

Более 50 пациентов, получавших Экулизумаб в связи с аГУС описаны в виде отдельных случаев или включены в международные исследования II фазы

Fremeaux-Bacchi et al., Clin Kidney J, 2012



67

***330.000***

***Евро на пациента в год***

68

### Острая фебрильная плейохромная анемия с гиалиновыми тромбами терминальных артериол и капилляров

Не описанное заболевание  
ELI MOSCHOWITZ, M.D.

Описание случая (Госпиталь Бет-Израэль)

#### 15 сентября 1923

- 16-летняя девушка
- Лихорадка, бледность, петехии

#### Лабораторные данные

- Гемоглобин: 4 g/dl
- Лейкоциты: 12.600/nl
- Креатинин сыворотки: 1,1 mg/dl
- Альбуминурия с цилиндрами

#### 20 сентября 1923

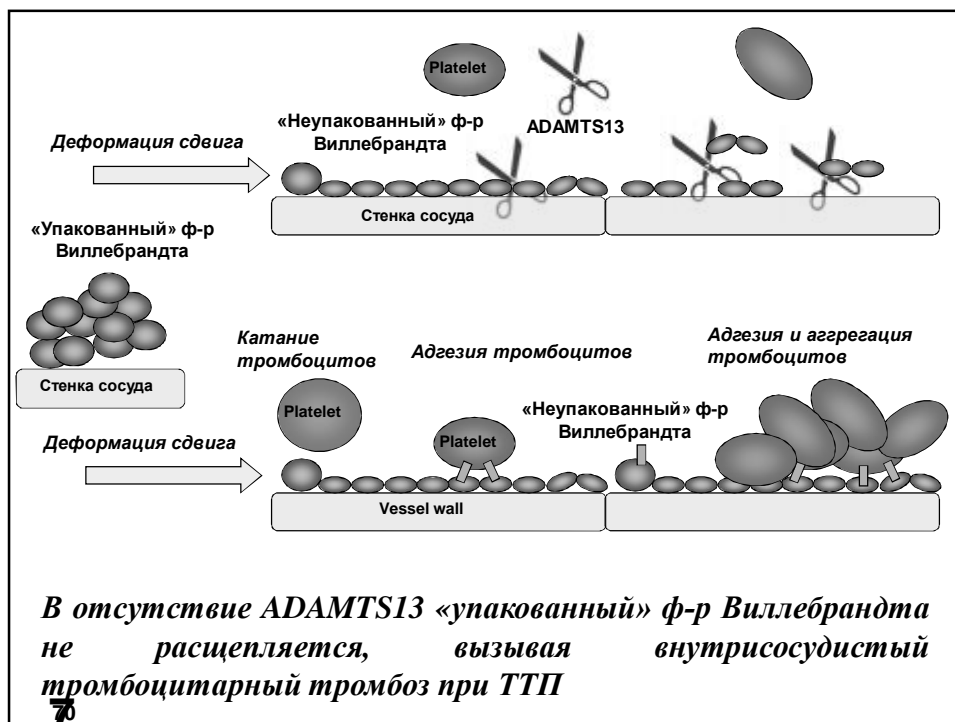
- Частичный паралич, кома, смерть

#### Аутопсия

- Гиалиновые тромбы в терминальных артериолах и капиллярах сердца и почек

Подсчет тромбоцитов не выполнен

69



***В 2001 Levy и его сотрудники картировали ген протеазы фактора фон-Виллебрандта ADAMTS13 на хромосоме 9q34 и идентифицировали 12 мутаций с ТТП***

*Levy et al., Nature, 2001*

### **ADAMTS-13**

Состоит из последовательности 1427 аминокислот

- Член семейства **ADAMTS** (**A** **D**isintegrin **A**nd **M**etalloprotease with **T**hrombo**S**pondin type I repeats)
- мРНК определяется только в печени
- Рекомбинантная ADAMTS13 непосредственно расщепляет пептид Tyr842-Met843 связывающий субъединицы фактора Виллебрандта
- Распознает A1-A3 домены фактора Виллебрандта
- Активность зависит от бивалентных катионов

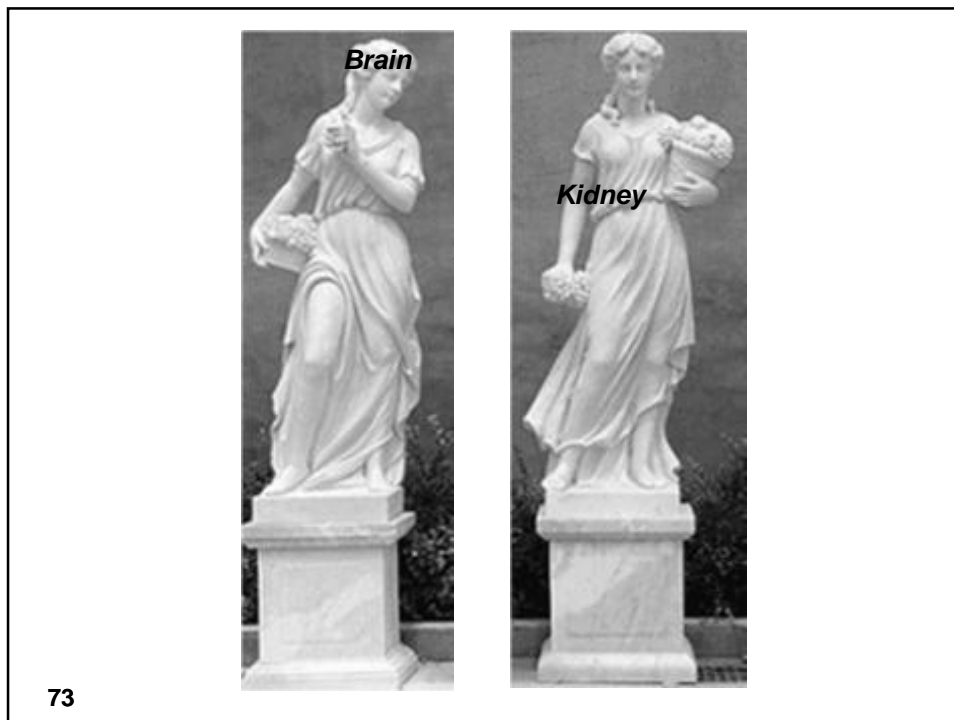
71

***В отсутствие ADAMTS13, мультимеры фактора Виллебрандта не расщепляются, что вызывает внутрисосудистый тромбоцитарный тромбоз, свойственный ТТП***

***“Один-единственный лабораторный тест позволит врачам отличать ТТП от ГУС***

*Moake et al., N Engl J Med, 1998*

72



- В семье две сестры страдали тромботической микроангиопатией, у одной проявлялись неврологические симптомы, а у другой имелось также тяжелое поражение почек
- Двое больных имели тотальный дефицит ADAMTS13 вследствие двух гетерозиготных генетических мутаций
- Гетерозиготная мутация гена фактора Н также была обнаружена у пациентки с хронической почечной недостаточностью, но не была найдена у ее сестры с преимущественно неврологическими симптомами

74

Noris et al., *J Am Soc Nephrol*, 2005



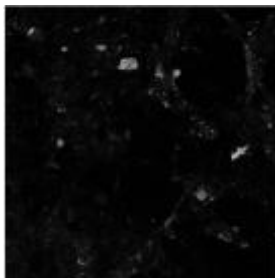
## Тромботическая микроангиопатия у 17 летнего пациента: ТТП, ГУС или и то и другое?

J.Gerth, M. Busch, F. Oyen, R. Schneppenheim, T. Keller, U. Budde, H.-J. Groene and G. Wolf

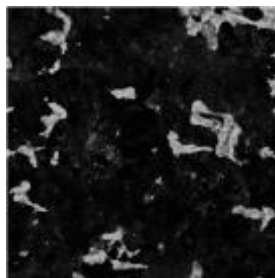
- 17-летний юноша с тромботической микроангиопатией и острой почечной недостаточностью
- Очень низкая активность ADAMTS13
- STEC E.coli O157:H7 выделена из стула

75

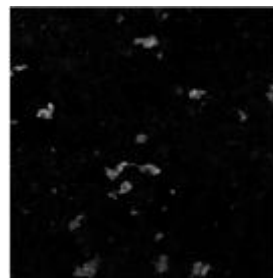
75



Контроль



ТТП



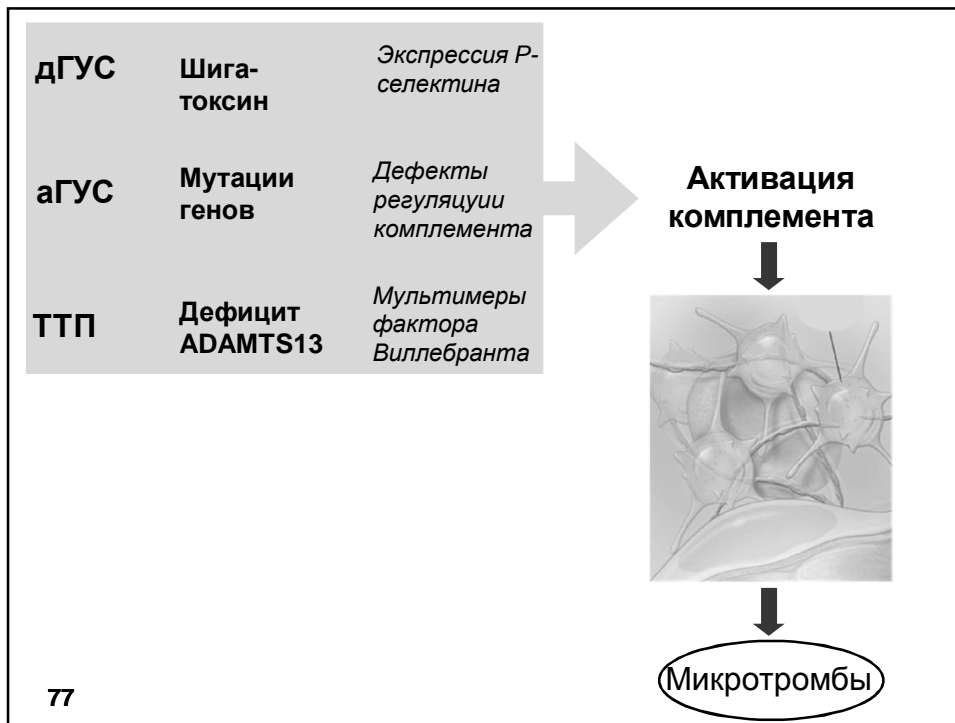
ТТП + sCR1

### *Сыворотка пациента с признаками острой ТТП:*

- Массивная депозиция С3 на эндотелиальных клетках
- Активация эндотелиальных клеток и тромбоз, эффекты медируются продуктами активации комплемента

76

Ruiz-Torres et al., *Thromb Haemost*, 2005



## HUS and TTP: Variable expression of a single entity

Principal discussant: GIUSEPPE REMUZZI

Mario Negri Institute for Pharmacological Research, and Ospedali Riuniti di Bergamo, Bergamo, Italy

Guest editor: SERAFINO GARELLA

Michael Reese Hospital and Medical Center, Chicago, Illinois

**Editors**  
JORDAN J. COHEN  
JOHN T. HARRINGTON  
JEROME P. KASSIRER  
NICOLAOS E. MADIAS

**Managing Editor**  
CHERYL J. ZUSMAN

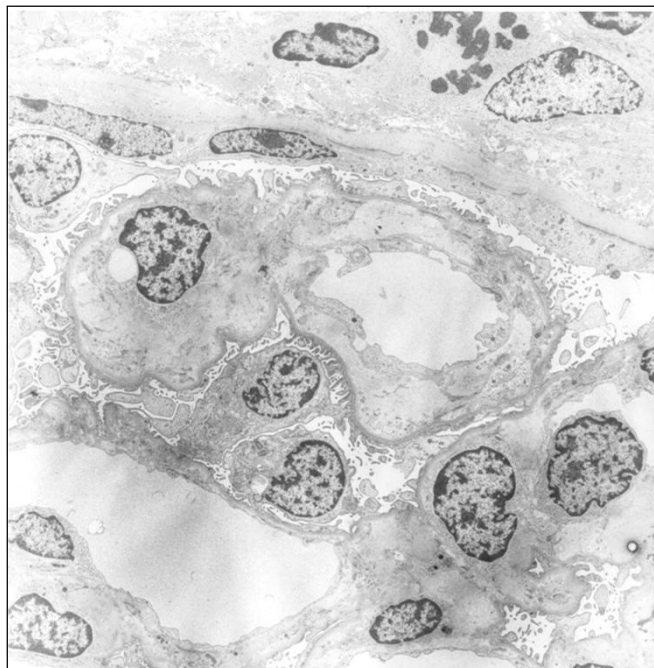
University of Chicago Pritzker School of Medicine  
and  
Tufts University School of Medicine



dilution. Microscopic examination of a stained blood film showed 20% schistocytes. Serum creatinine was 20.5 mg/dl. Coombs test, HBsAG, C-reactive protein, latex agglutination, and cryoglobulins were negative; erythrocyte sedimentation rate was 70 mm/hr. Stool examination was negative for blood, leukocytes, salmonella, and pathogenic strains of *E. coli*. The serum neuraminidase activity was normal. A chest x-ray disclosed mild cardiomegaly and lung congestion. An abdominal radiograph was normal; the kidneys were 10 cm in length with regular contours. Renal ultrasonography revealed no evidence of urinary obstruction.

An open biopsy of the left kidney was performed. Histologic examination of the renal specimen revealed more than 50 glomeruli. By light microscopy, glomeruli showed marked thickening of glomerular capillary walls with subendothelial clear deposits and severe narrowing or occlusion of capillary lumens (Fig. 1A). Endothelial swelling and occasional thrombi also were detected. Arterioles displayed diffuse thrombotic changes associated with some areas of necrosis. Most arteries also were heavily involved with lesions characterized by intimal and medial thickening, thrombosis, and necrosis (Fig. 1B). Tubules

79



80



**Эти слайды принадлежат Джузеппе  
Ремуцци  
Институт Марио Негри по  
фармакологическим исследованиям,  
Бергамо, Италия**

**Использование этих слайдов  
возможно только при ссылке на  
источник**