



Генетические аспекты атипичного гемолитико-уремического синдрома. Роль в формировании подхода.

А.Н.Цыгин

НМИЦ Здоровья детей

tsygin@nczd.ru



Атипичный ГУС у детей

Доклад Цыгина А.Н.

Очень тяжелое течение у большинства

15% умирают

25% тХПН

15% сниж СКФ

1/3 восстановление без серьезных последствий

75% имеют единственный эпизод

25% - повторные эпизоды аГУС

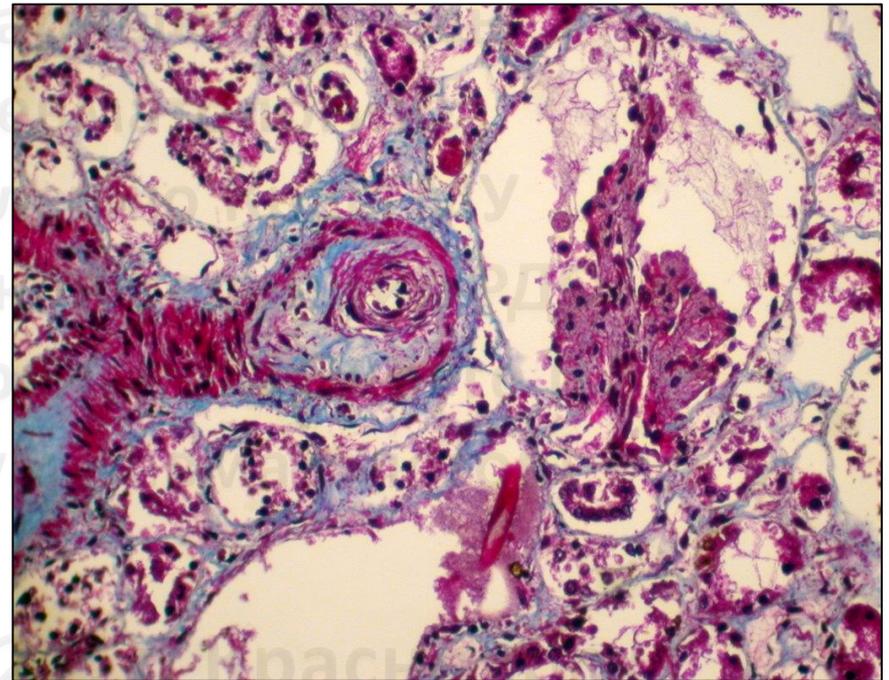
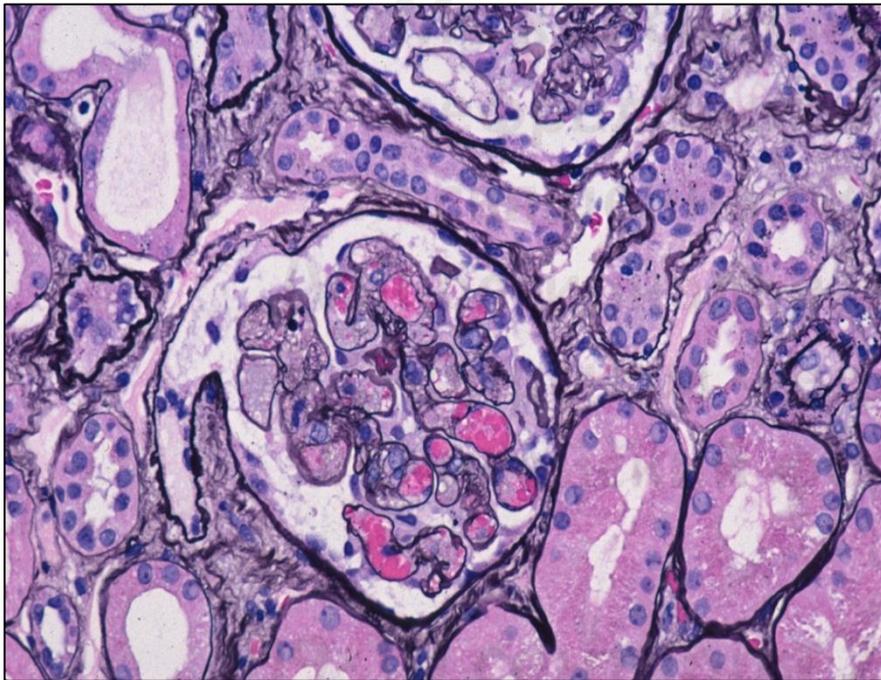
До 50% детей с терминальной ХПН в исходе ГУС страдают его атипичной формой

09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Поражение клубочков и внегломерулярных сосудов при ТМА

Доклад Дыбина А.Н.

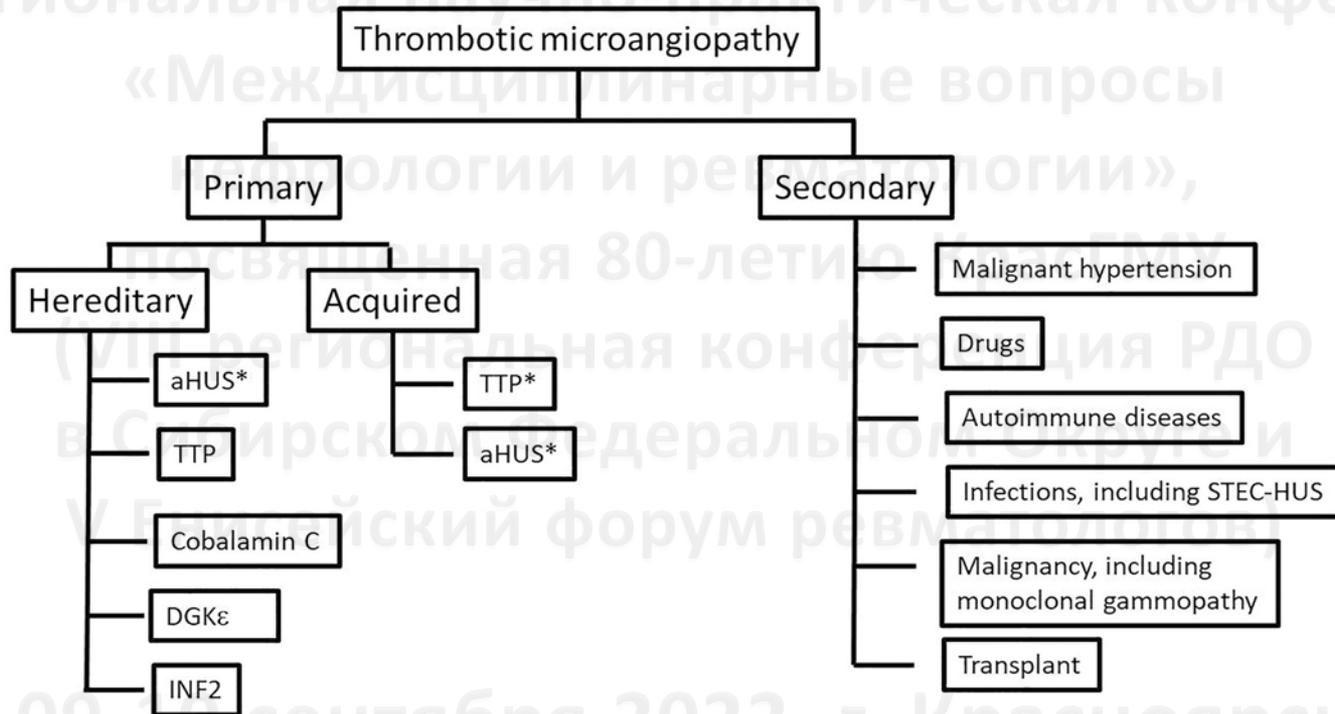
Межрегиональная научно-практическая конференция



Препарат Е.С. Столяревич

Новая классификация ТМА

Доклад Цыгина А.Н.

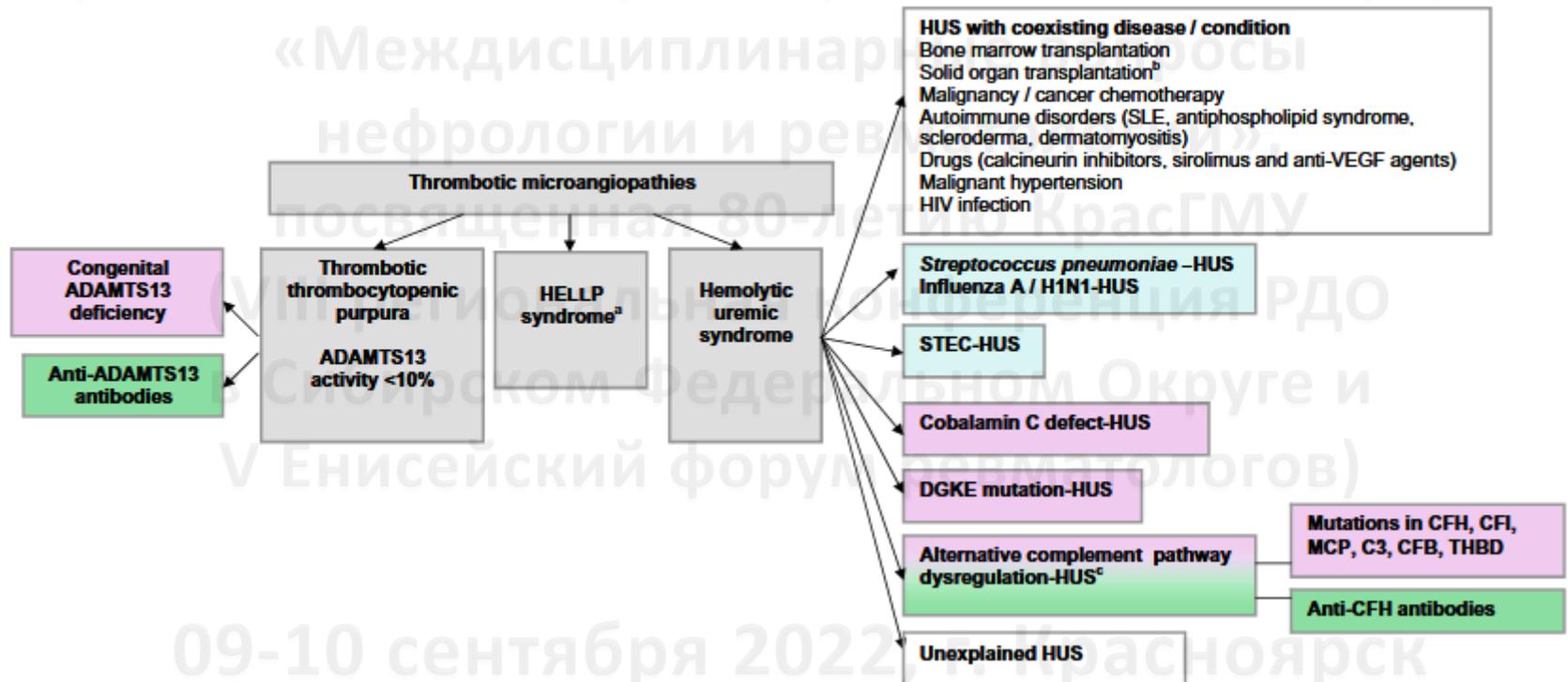


09-10 сентября 2022, г. Красноярск

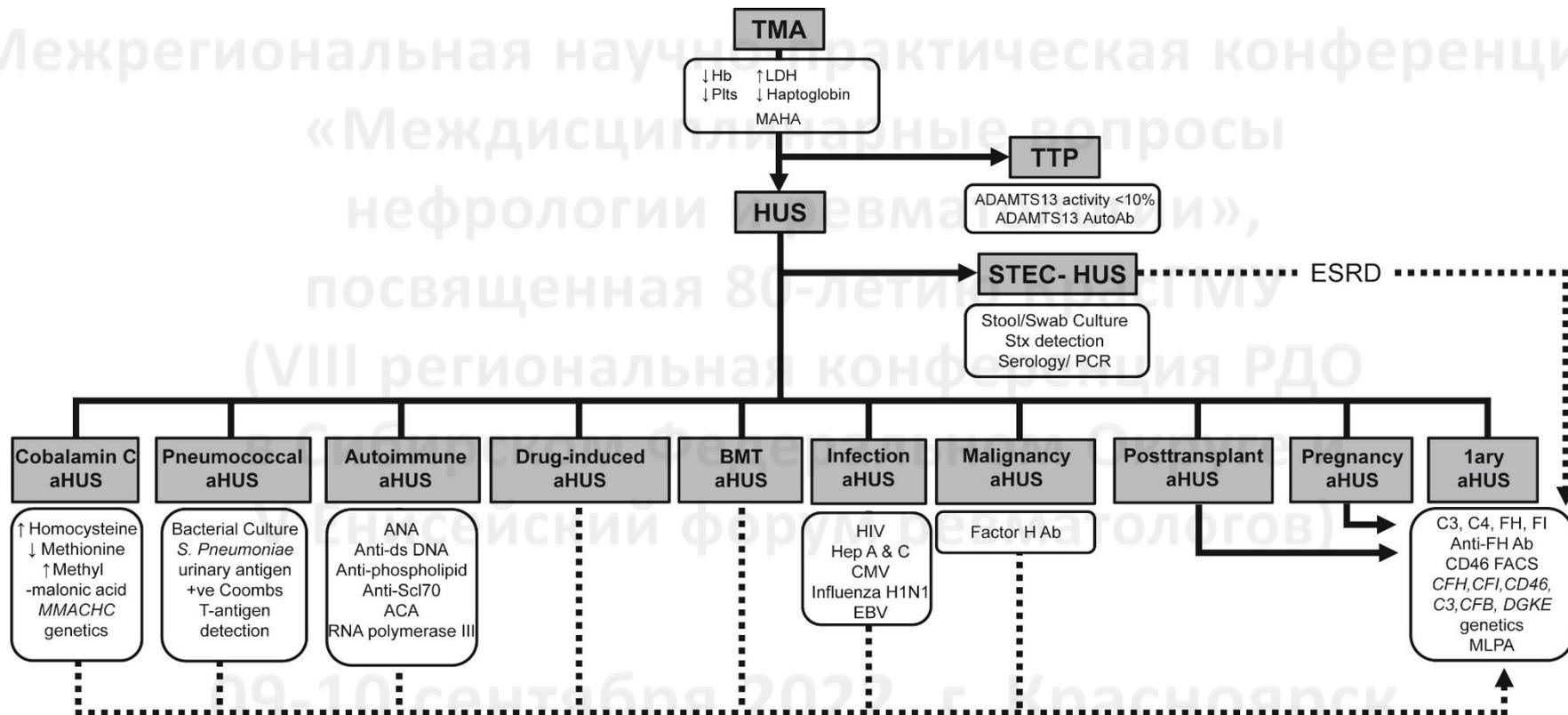
Варианты тромботической микроангиопатии

Доклад Цыгина А.Н.

Pediatr Nephrol



Диагностический алгоритм аГУС



Вероятный диагноз аГУС

Доклад Цыгина А.Н.

- Одному или более членам семьи диагностирован аГУС с интервалом не менее 6 месяцев при исключении экспозиции к триггерам инфекционного характера.
- У пациента отмечен рецидив ГУС даже после полного восстановления после предыдущего эпизода.
- Присутствуют средовые факторы, такие как лекарства, системные заболевания, вирусные или бактериальные агенты, не сопровождающиеся идентификацией Shiga-подобных экзотоксинов.

Генетика а ГУС

Доклад Цыгина А.Н.

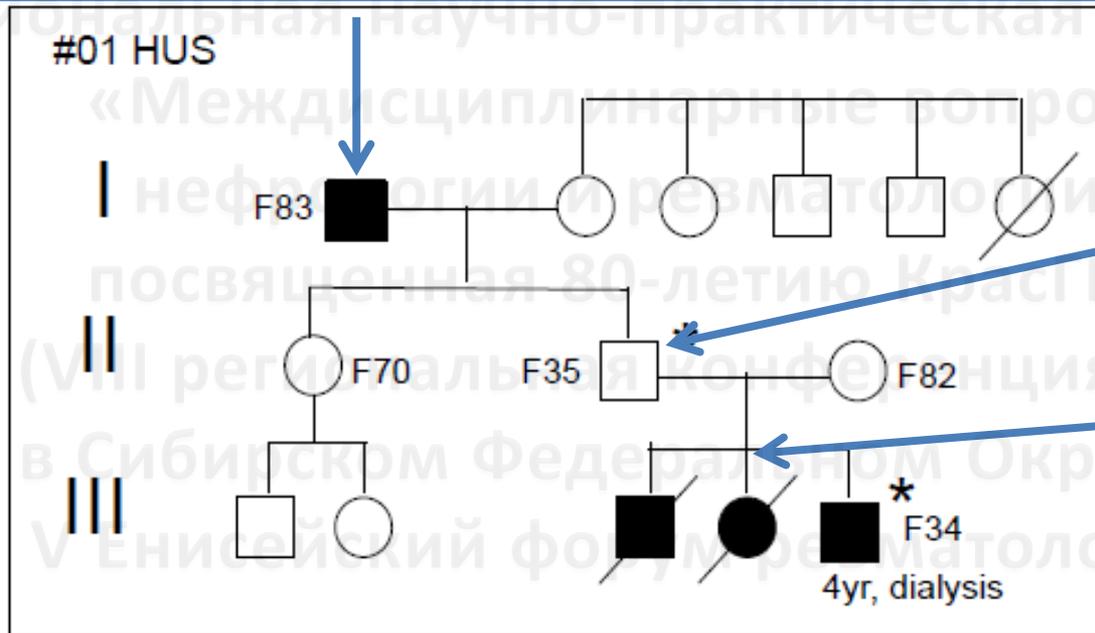
Межрегиональная научно-практическая конференция
«Междисциплинарные вопросы
нефрологии и ревматологии»,
посвященная 80-летию КрасГМУ
(VIII региональная конференция РДО
в Сибирском Федеральном Округе и
V Енисейский форум ревматологов)

09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Атипичный ГУС генетически обусловленное заболевание с неполной пенетрантностью.

- История семьи, носителей мутации фактора H

В возрасте 82 года развился аГУС, больной погиб



* R1215Q change in CFH

У носителя мутации на момент возраста 35 лет аГУС не манифестировался

У 3-х в раннем детстве развились симптомы аГУС: два из них погибли у третьего развилась терминальная ХПН

Гены, ассоциированные с аГУС и тип наследования

- Гены, ассоциированные с аГУС: *C3*, *CD46* (*MCP*), *CFB*, *CFH*, *CFHR1*, *CFHR3*, *CFHR4*, *CFHR5*, *CFI*, *DGKE*, *THBD*, *VTN* (витронектин)
- Аутомно доминантное наследование со сниженной пенетрантностью гена : *C3*, *CD46*, *CFB*, *CFH* (в т.ч. гибридные гены *CFH*), *CFHR5*, *CFI*, *THBD*, или *VTN*
- Аутомно-рецессивное наследование: *DGKE*, делеции *CFHR3/CFHR1* и *CFHR1/CFHR4*

Мутации факторов комплемента разнообразны и не определяются у 30-50% пациентов а-ГУС

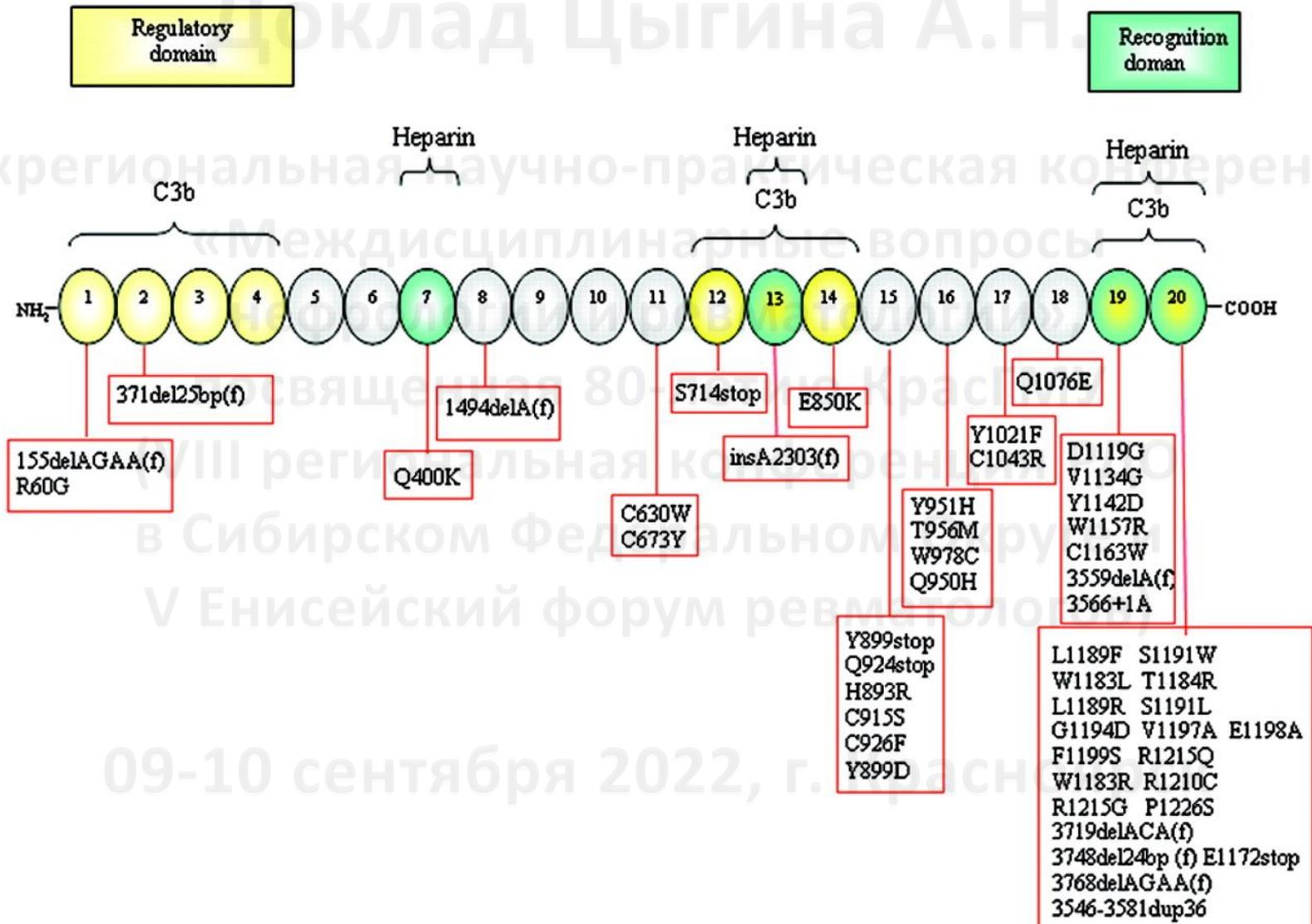
Скрининг мутаций имеет высокую научную ценность, но не реален при первичной постановке диагноза аГУС

Идентифицированные генные аномалии регулирующих комплемент белков при аГУС

Ген	Пораженный белок	Основной эффект	Частота (%)
Мутация не идентифицируется	Не идентифицируется	Не идентифицируется	30% - 50%
CFH	Фактор H	Не связывается с эндотелием и не защищает его, снижена инактивация C3	20% - 30%
CFHR1/3	Фактор HR1, R3	Связан с выработкой антител к фактору H	6%
MCP	Мембранный белок-кофактор	Отсутствует экспрессия на поверхности клеток	6%
CFI	Фактор I	Не действует в качестве необходимого кофактора для остальных ингибиторов	4% -10%
CFB	Фактор B	Образуется C3 конвертаза, которая более стабильна и активна	1% - 2%
C3	Комплемент C3	Форма C3, которая устойчива к инактивации	5% - 10%
THBD	Тромбомодулин	Пониженная инактивация C3b	5%

IDENTIFIED MUTATIONS		Frequency in patients with aHUS (%) ^{3-5,23,47,88-96}	ESRD or death within 3-10 years of diagnosis (%) ^{3,5,23,96,97}
	CFH mutations	20-52	66-80
	CFH autoantibodies and/or CFHRI-3 deletions	5-10	30-63
	CFI mutations	4-10	50-72
	THBD mutations	3-10	54-60
	C3 mutations	2-10	56-67
	CFB mutations	1-4	70
	Isolated MCP mutations	5-15	6-38
	Combined MCP mutations	2	47
	DGKE mutations	~27	46
NO IDENTIFIED MUTATIONS		30-50	32-50

Мутации CFH, ассоциированные с аГУС



аГУС, опосредованный антителами с CFH

Доклад Цыгина А.Н.

HOMOZYGOUS DELETION OF CFHR1-CFHR3 GENES IS ASSOCIATED WITH FORMATION OF ANTI-CFH AUTOANTIBODIES

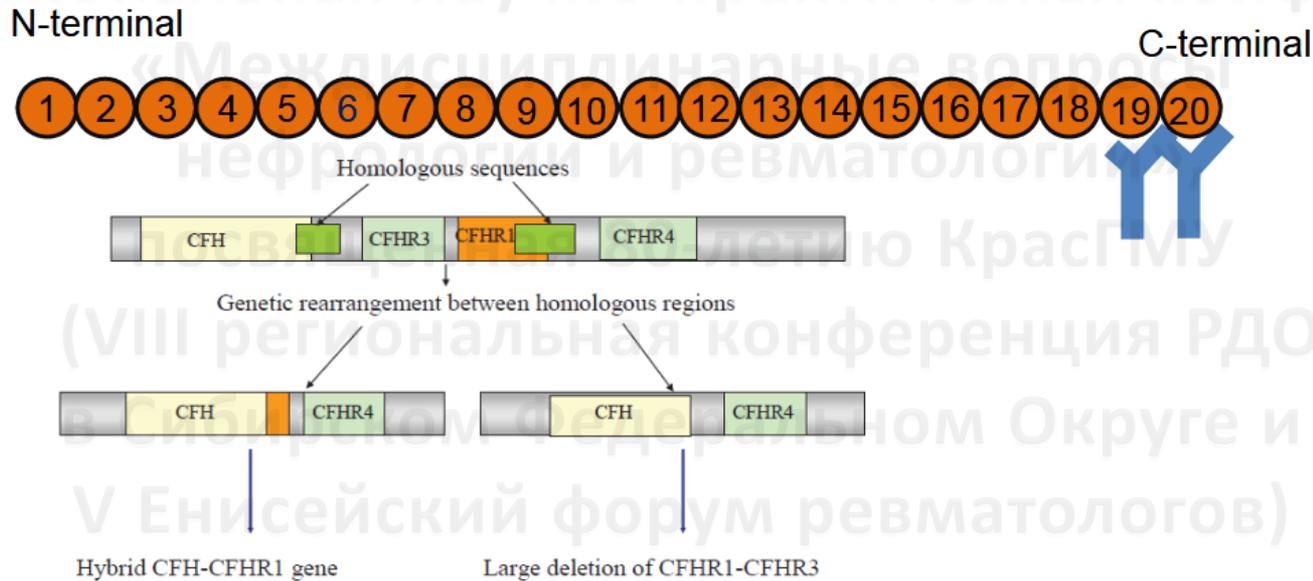


09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Blanc et al., *J Immunol*, 2012

Доклад Цыгина А.Н.

Factor H autoantibody



- 3-10% of cases in children
- Functional deficiency of factor H
- Related with homozygous deletion of *CFHR*

Noris M and Remuzzi G. N Engl J Med. 2009;361:1676-87

Jozsi M, et al. Blood. 2008;111:1512-1514

Sinha A, et al. Kidney Int. 2014;85:1151-60

Корреляция генотипа и клинических проявлений у пациентов с аГУС

CFH, CFI, CFB и C3
мутации

- Плохой прогноз начиная с самых первых проявлений, риск жизнеугрожающих осложнений на всем протяжении
- ТХПН : 50-70 %
- Повторные эпизоды ТМА: >50%

MCP мутации

- <20% пациентов умирают или прогрессируют до ТХПН,
- Риск повторных эпизодов ТМА >70%

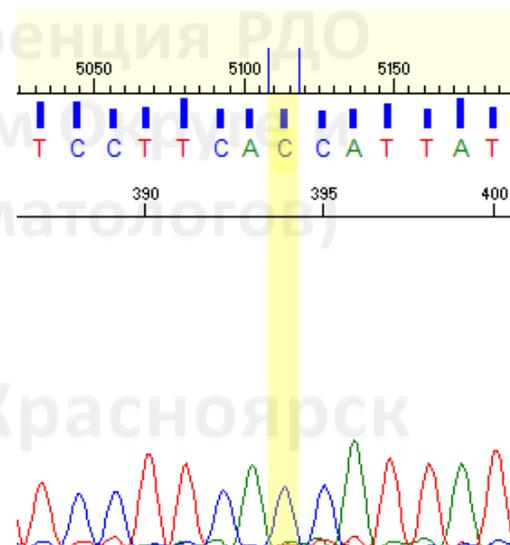
Трансплантация
почки

- Большинство факторов комплемента продуцируются в печени и после трансплантации заболевание продолжается (высокий риск при CFH, CFI, CFB и C3)
- MCP – после трансплантации почки дефицит белка устраняется.
- Имеется риск повторных манифестаций ТМА после трансплантации у пациентов с мутацией тромбомодулина или антител к фактору Н. Причины этого до конца не понятны

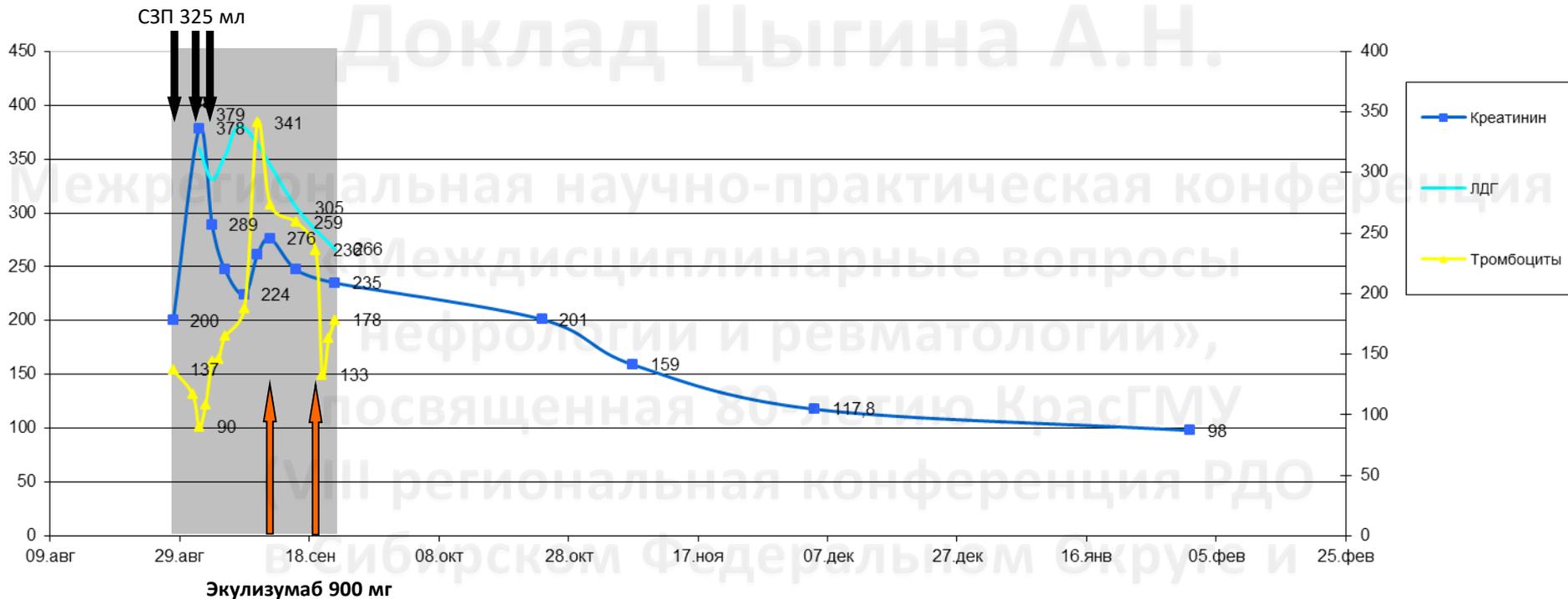
Пример результата молекулярно-генетического исследования для пациентки 14 лет с множественными рецидивами ТМА

№ пациента	Подтверждено другим методом	Ген	Экзон/Интрон	Мутация			Комментарии
Nefro9	да	CD46	3	c.307C>T	p.Arg103Trp	гомозигота	Haemolytic uraemic syndrome, atypical
		CFH	9	c.1204C>T	p.His402Tyr	гетерозигота	associated with age-related macular degeneration
		CFH	18	c.2808G>T	p.Glu936Asp	гомозигота	associated with haemolytic uraemic syndrome

Все потенциально значимые нуклеотидные замены, выявленные методом секвенирования нового поколения, были подтверждены методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру. На рисунке справа изображена мутация p.Arg103Trp в гомозиготном состоянии



Эффект экулизумаба у пациентки с мутацией МСР



09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Результаты российского исследования 71 ребенка с аГУС. Спектр и частота мутаций в генах системы комплемента.

Доклад Цыгина А.Н.

Межрегиональная научно-практическая конференция

«Междисциплинарные вопросы

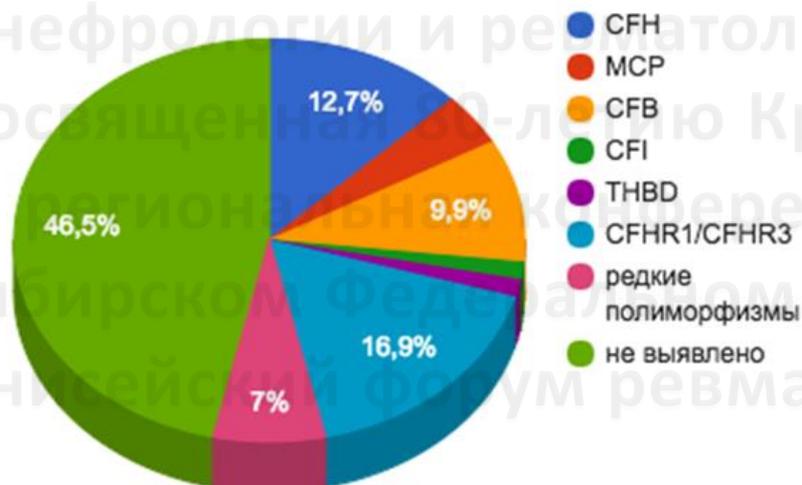
нефрологии и ревматологии»,

посвященная 90-летию КрасГМУ

(VIII Межрегиональная научно-практическая конференция РДО

в Сибирском Федеральном Округе и

V Европейском Конгрессе ревматологов)



09-10 сентября 2022, г. Красноярск

*Цыгин А.Н. и соавт.
Педиатрия 2017*

Частота генных мутаций при аГУС в регионах мира

Доклад Цыгина А.Н.

Межрегиональная научно-практическая конференция
«Междисциплинарные вопросы

	Noris et al. [19], International Register	Fremeaux-Bacchi et al. [10], France	Fujisawa et al. [32], Japan	Maga et al. [33], USA
CFH, %	24	20–30	10	27
CFL, %	4	4–10	–	8
MCP, %	7	5–15	5	5
C3, %	4	2–10	31	2
CFB, %	–	1–4	–	4
THBD, %	5	3–5	–	3
Combined, %	3	2	5	
Anti-FH antibodies, %	–	6–10	19	

CFH, complement factor H; CFL, complement factor I; CFB, complement factor B; MCP, membrane cofactor protein; THBD, thrombomodulin.

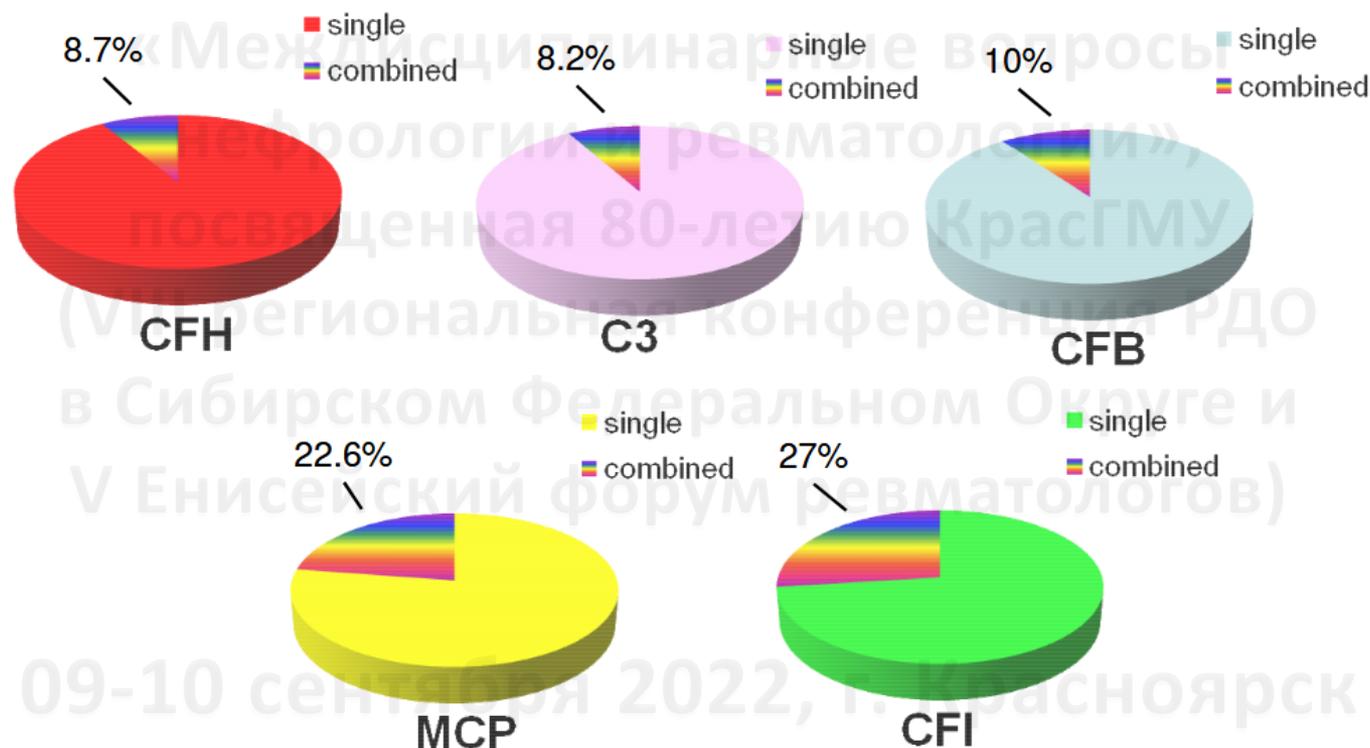
09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Комбинированные аномалии генов комплемента при аГУС

Доклад Цыгина А.Н.

COMBINED COMPLEMENT GENE ABNORMALITIES IN aHUS

795 patients from 4 European cohorts



Combined complement gene abnormalities were found in about one quarter of patients with MCP or CFI mutations, and in around 10% of patients with CFH or C3 or CFB mutations

	Мутации n=33	Без мутации n=38	CFH n=9	CFHR1/CFHR3 n=12	CFB n=7	CFI n=1	MCP n=3	THBD n=1
Возраст дебюта, мес (среднее±станд. откл, мин-макс)	5,31±3,62 (0,08- 13,5)	4,28±4,04(0, 5-16,3)	5,39±3,75 (0,9-13,5)	7,03±3,3 (0,8- 12,8)	2,63±2,72 (0,08-7,9)	2,17	3,68±1,41 (2,75-5,3)	10,60
Пол м/ж	15/18	16/22	4/5	6/6	3/4	0/1	1/2	1/0
Семейная форма (n)	3	2	1	0	0	0	1	1
АГ в дебюте (n, %)	18 (54,5%)	12 (31,6%)	4 (44,4%)	8 (66,7%)	4 (57,1%)	1 (100%)	1 (33,3%)	0
Потребность в диализе (n, %)	21 (63,6%)	27 (71%)	5 (55,6%)	8 (66,7%)	5 (71,4%)	1 (100%)	1 (33,3%)	1 (100%)
ОНМК/судороги (n, %)	5 (15,2%)	13 (34,2%) p=0.057	1 (11,1%)	2 (16,7%)	1 (14,3%)	1 (100%)	0	0
Исход в ХПН с рСКФ<30 мл/мин/1,73 м ² (n, %)	9 (27,3%)	10 (26,3%)	3 (33,3%)	2 (16,7%)	3 (42,9%)	0	0	1 (100%)

Доклад Цыгина А.Н.

- Между детьми с выявленными мутациями и с их отсутствием единственным достоверным различием оказалась большая частота рецидивов в сочетании с мутациями (57% vs 31%)

(VIII региональная конференция РДО
в Сибирском Федеральном Округе и
V Енисейский форум ревматологов)

09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Частота диареи в дебюте у детей с мутациями и без них

Доклад Цыбина А.Н.

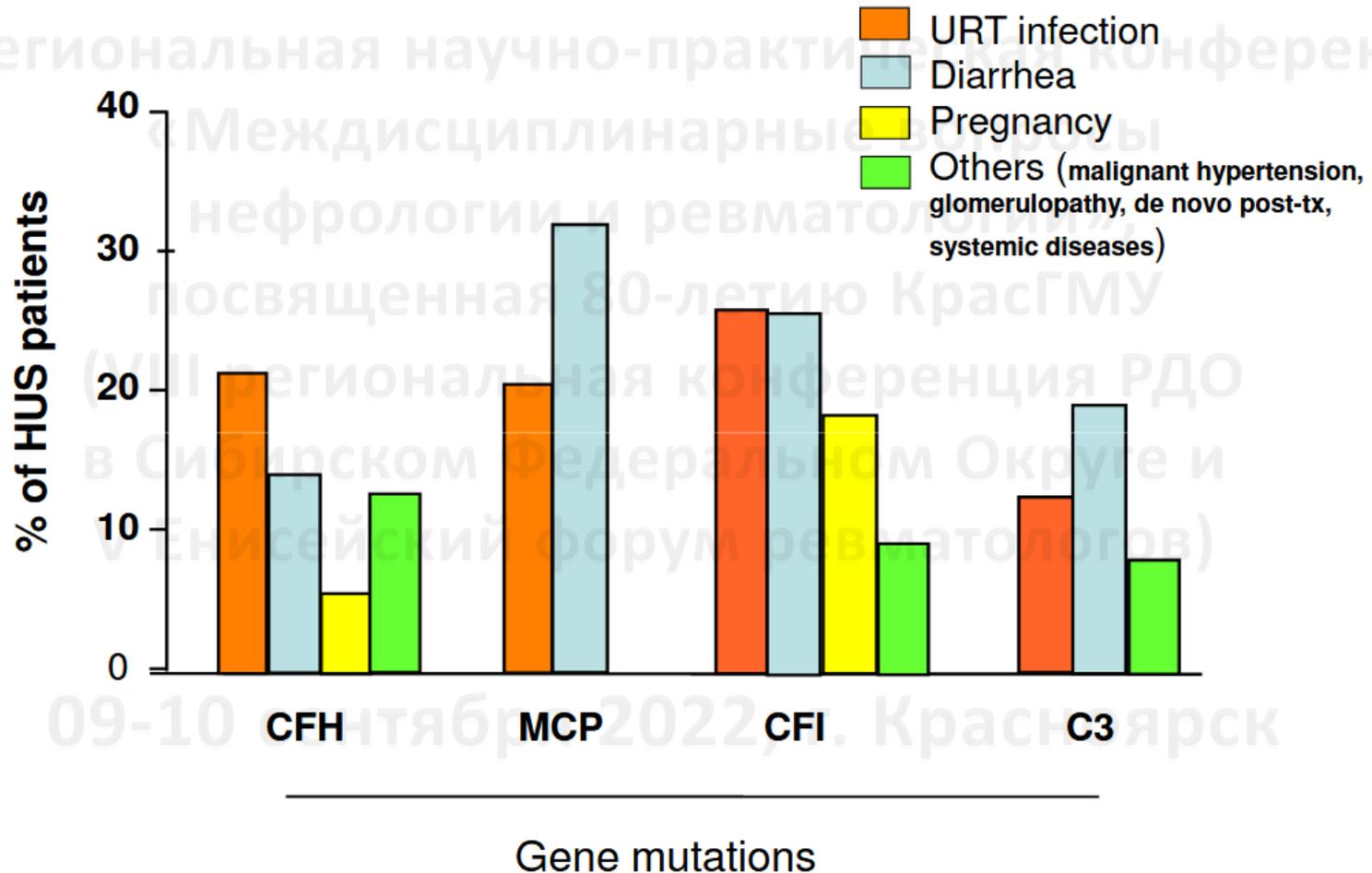
Мутации	Полиморфизмы	Нормальный генетический вариант
6/33 (18%)	2/5	14/33 (42,4%)



03-10 сентября 2022, г. Красноярск

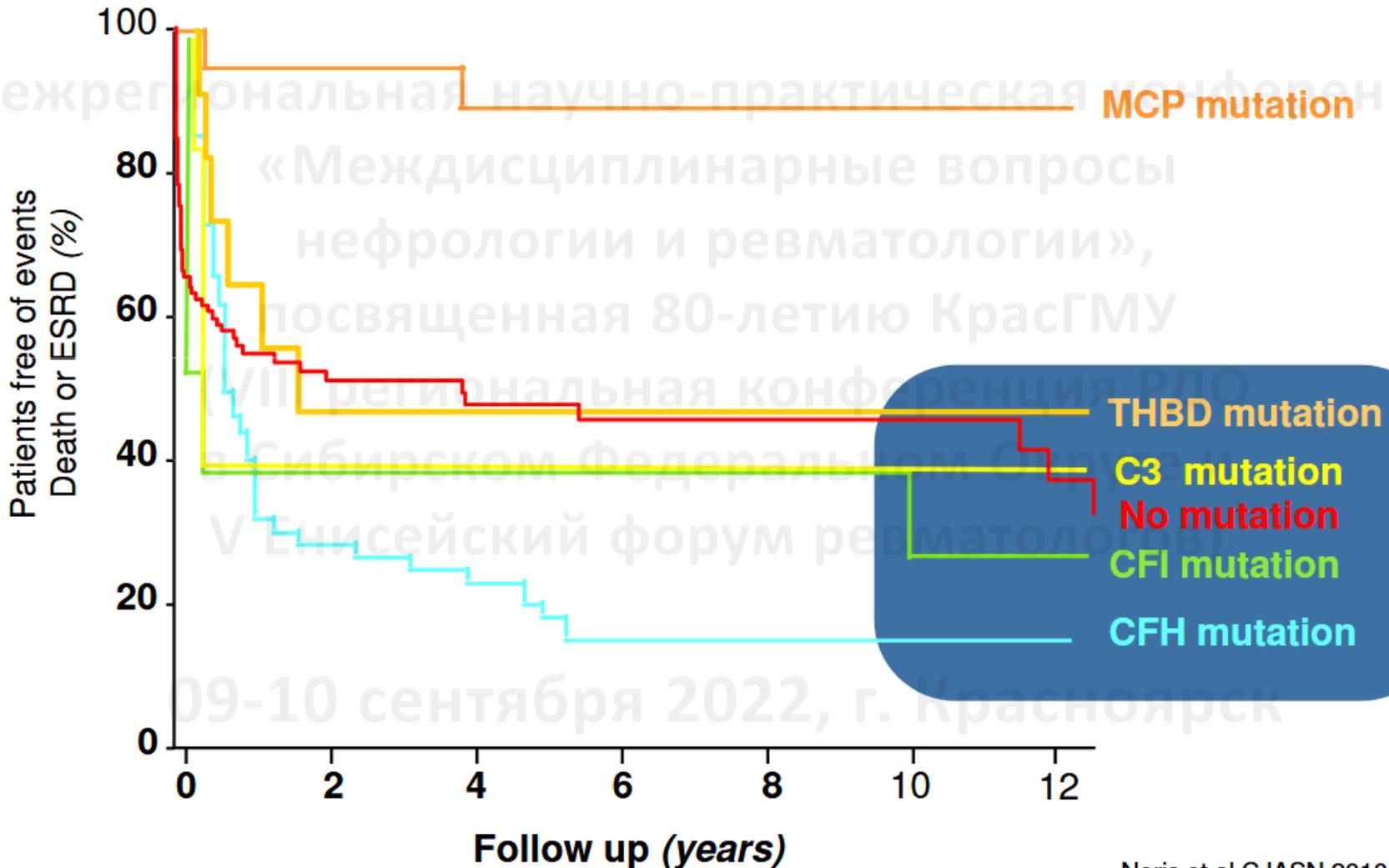
Триггеры ТМА при различных мутациях

TRIGGERING / UNDERLYING CONDITIONS



Долгосрочный прогноз аГУС при мутациях

Доклад Цыгина А.Н.



Генетика и отмена экулизумаба

Межрегиональная научно-практическая конференция
«Междисциплинарные вопросы
нефрологии и ревматологии»,
посвященная 80-летию КрасГМУ
(VIII региональная конференция РДО
в Сибирском Федеральном Округе и
V Енисейский форум ревматологов)

09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Гены, ассоциированные с аГУС и риск отмены экулизумаба.

Доклад Цыгина А.Н.

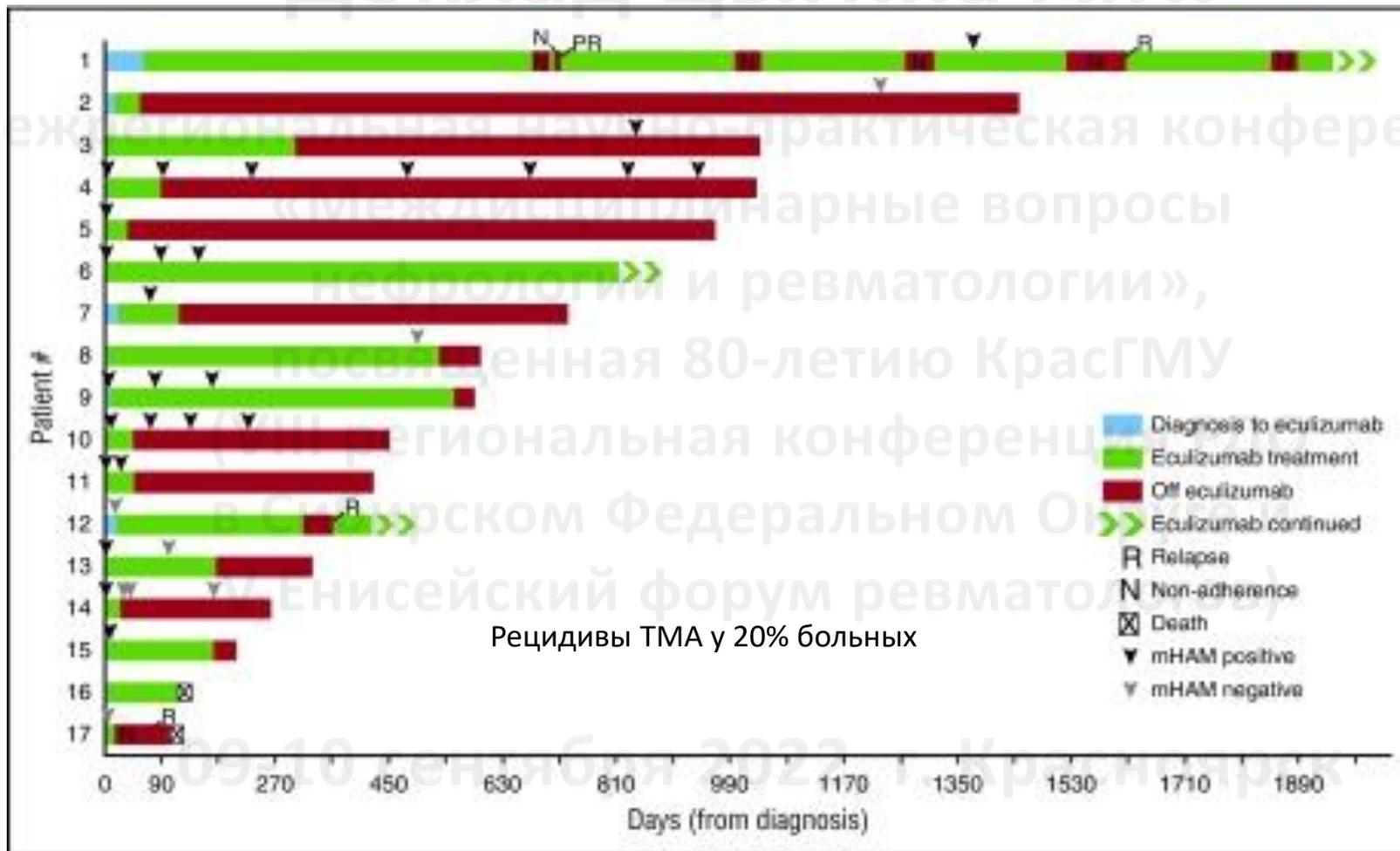
Межрегиональная научно-практическая конференция

Genes	Chr. locus	Proteins	Proportion to atypical HUS	Clinical presentations	Risk of disconti of eculizumab ¹⁴
<i>C3</i>	19p13.3	Complement C3	2-8% ¹⁵	Typically present in childhood, 60% develop ESRD. 57% response to plasma exchange ⁶	High ¹⁶
<i>CD46</i>	1q32.2	Membrane cofactor protein	5-9% ^{15,17}	Typically present in childhood, milder acute episode. 80% complete remission, 60-70% of individuals remain dialysis free even after several recurrences ⁶	Low
<i>CFB</i>	6p21.33	Complement factor B	Rare ^{15,18}	Presenting both in childhood and adulthood. Higher variability. 70% eventually ESRD ¹⁹	
<i>CFH</i>	1q31.3	Complement factor H	21-22% ¹⁵	High risk of relapse, 60-80% ESRD or death. Liver-kidney transplantation ²⁰	High ²¹
<i>CFHR1-5</i>	1q31.3	Complement factor H-related protein 1	<i>CFHR3/CFHR1</i> deletion: 28% ²² <i>CFH/CFHR1</i> hybrid: 3-5% <i>CFHR1/CFHR4</i> deletion: rare	Poor clinical prognosis and high risk of post-transplant recurrence ²³⁻²⁵	Low for homozygous <i>CFHR3/CFHR1</i> deletion
<i>CFI</i>	4q25	Complement factor I, C3b inactivator	4-8% ¹⁵	Variable. 58% ESRD ⁶	Low
<i>DGKE</i>	17q22	Diacylglycerol kinase epsilon	~27% of those present at age <1 year	Onset before 1-year old in homozygote patient ²⁶ Early chronic kidney disease	
<i>THBD</i>	20p11.21	Thrombomodulin	~5%	90% present in childhood. 50% ESRD. Plasma treatment induced disease remission in about 80% of acute episodes ⁶	
<i>CFH</i> auto-antibody				Highly relapsing disease course. Significant gastrointestinal symptoms and/or diarrhea, thus, resembling eHUS. May have infection trigger. ²⁷ Plasma exchange and immunosuppression therapy ²⁸	

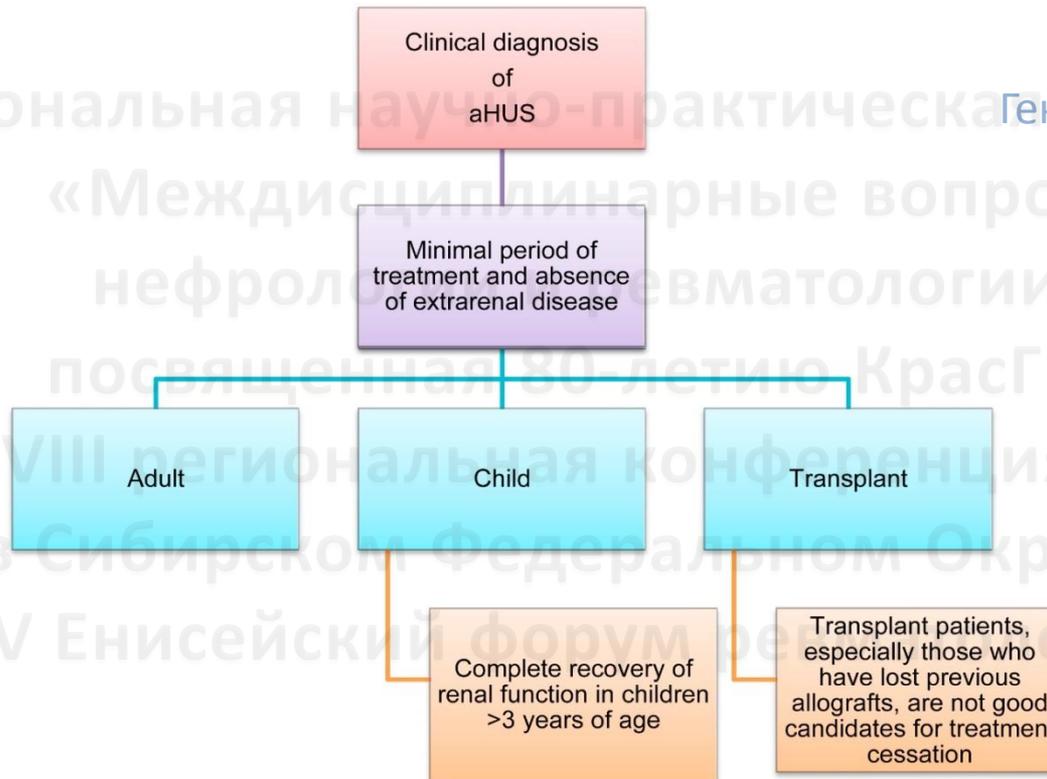
09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Наблюдение за отменой экулизумаба у взрослых с аГУС

Доклад Цыгина А.Н.



Принципы завершения терапии экулизумабом при аГУС



If eculizumab is to be discontinued close periodic monitoring of renal function and hematological parameters is mandatory. There are NO data to inform the frequency of testing

Генетика и отмена экулизумаба

Доклад Цыгина А.Н.

Межрегиональная научно-практическая конференция

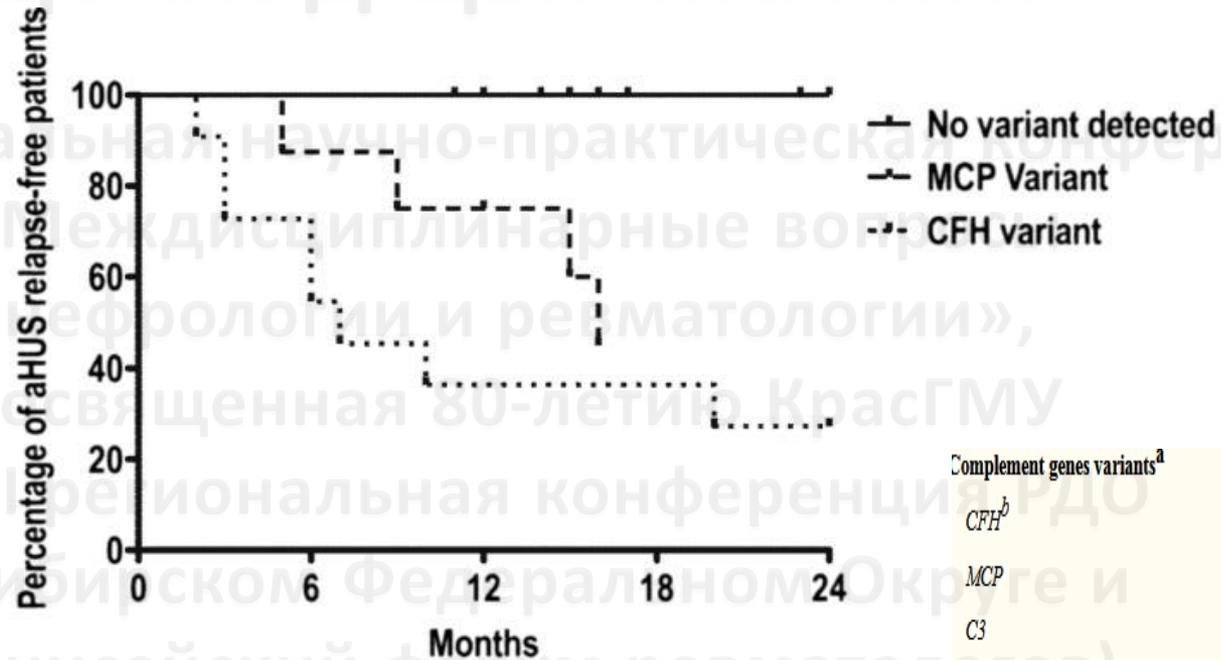
Study group	Number of patients	Median duration of eculizumab treatment	Number of patients who discontinued treatment with eculizumab	Median duration of follow-up after stopping treatment	Number of patients who relapsed after discontinuation	Proportion of relapsed patients with mutations and type of mutations	Outcome
Ardissino et al ⁸⁴ (2015)	16	4.3 (0.5–14.4) months	16	0.7–40 months	5/16 (31.2%)	5/5 (CFH-4, CFI-1)	All patients who relapsed were restarted on eculizumab and had rapid improvement of renal function.
Fakhouri et al ⁸³ (2017)	108	17.5 months	38	22 months	12/38 (31.5%)	12/12 (CFH-8, MCP-4)	All patients had rapid remission of TMA after restarting eculizumab with no long-term sequelae.
Meril et al ⁴⁷ (2017)	17	3 months	15	10.2 months	3/15 (20%)	3/3 (CFH-2, ADAMTS 13–1)	2 of 3 patients restarted eculizumab and renal function returned to baseline.
Macia et al ⁸² (data from clinical trials) (2017)	130	6.3 months	61	6.3 months	12/61 (19.6)	7/12 (CHF-5, others-2)	3 patients progressed to ESRD with one patient requiring dialysis despite restarting eculizumab
Wijnsma et al ⁸⁵ (2017)	20	3.8 months	17	27.4 months	5/17 (29.4%)	5/5 (CFH-4, C3-1)	No chronic sequelae after restart of eculizumab were noted.
Sheerin et al ⁸⁶ (2016)	43	6 months	14	12 months	3/14(21%)	2/3 (CFH-1, CD46-1)	Complete recovery was noted in all three patients after reintroducing eculizumab.

47,82–86

Abbreviations: TMA, thrombotic microangiopathy; CFH, complement factor H; MCP, membrane cofactor protein; ESRD, end-stage renal disease.

Ремиссия аГУС после отмены экулизумаба

Доклад Цыгина А.Н.



Number at risk

	0	6	12	18	24
CFH	11	7	5	2	0
MCP	8	7	5	3	1
No variant	16	15	14	8	6

Complement genes variants^a

<i>CFH</i> ^b	21 (55)
<i>MCP</i>	11 (29)
<i>C3</i>	8 (21)
<i>CFI</i>	1 (2.5)
No variant	1 (2.5)
Anti-CFH antibodies	16 (42.5)
	1 (2.5)

09-10 сентября 2022, г. Красноярск

Fakhouri F, Fila M, Provôt F, et al. Pathogenic Variants in Complement Genes and Risk of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Relapse after Eculizumab Discontinuation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017;12(1):50–59.

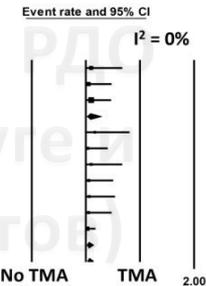
doi:10.2215/CJN.06440616

Профилактика возврата ТМА после трансплантации почки при аГУС (метаанализ)

- Риск возврата ТМА с развитием тХПН и смерти в первый год после трансплантации – 50%
- Профилактическое применение экулизумаба снижает риск возврата ТМА до 6,5% и потери трансплантата до 5,5%
- При анти-CFH антителоопосредованном варианте аГУС возможно применение ритуксимаба и другой иммуносупрессии

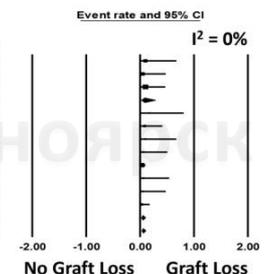
A. Recurrent TMA after Kidney Transplantation

Group by	Study name	Statistics for each study				
Type		Event rate	Lower limit	Upper limit	Z-Value	p-Value
Case series	Bresin et al	0.100	0.006	0.674	-1.474	0.140
Case series	Kumar et al	0.050	0.003	0.475	-2.029	0.042
Case series	Levi et al	0.100	0.014	0.467	-2.084	0.037
Case series		0.084	0.021	0.281	-3.231	0.001
Cohort	de Andrade et al	0.167	0.010	0.806	-1.039	0.299
Cohort	Favi et al	0.038	0.002	0.403	-2.232	0.026
Cohort	Matar et al	0.100	0.006	0.674	-1.474	0.140
Cohort	Sheerin et al	0.056	0.003	0.505	-1.947	0.052
Cohort	Yeiken et al	0.063	0.004	0.539	-1.854	0.064
Cohort	Zuber et al (1)	0.050	0.003	0.475	-2.029	0.042
Cohort	Zuber et al (2)	0.029	0.004	0.177	-3.476	0.001
Cohort		0.055	0.021	0.138	-5.505	0.000
Overall		0.063	0.028	0.134	-6.363	0.000



B. Allograft Loss due to TMA

Group by	Study name	Statistics for each study				
Type		Event rate	Lower limit	Upper limit	Z-Value	p-Value
Case series	Bresin et al	0.100	0.006	0.674	-1.474	0.140
Case series	Kumar et al	0.050	0.003	0.475	-2.029	0.042
Case series	Levi et al	0.100	0.014	0.467	-2.084	0.037
Case series		0.084	0.021	0.281	-3.231	0.001
Cohort	de Andrade et al	0.167	0.010	0.806	-1.039	0.299
Cohort	Favi et al	0.083	0.012	0.413	-2.296	0.022
Cohort	Matar et al	0.100	0.006	0.674	-1.474	0.140
Cohort	Sheerin et al	0.056	0.003	0.505	-1.947	0.052
Cohort	Siedlecki et al	0.034	0.011	0.100	-5.892	0.000
Cohort	Yeiken et al	0.063	0.004	0.539	-1.854	0.064
Cohort	Zuber et al (1)	0.050	0.003	0.475	-2.029	0.042
Cohort	Zuber et al (2)	0.029	0.004	0.177	-3.476	0.001
Cohort		0.049	0.024	0.097	-7.891	0.000
Overall		0.055	0.029	0.100	-8.498	0.000



IDENTIFIED MUTATIONS	Frequency in patients with aHUS (%)^{3-5,23,47,88-96}	ESRD or death within 3-10 years of diagnosis (%)^{3,5,23,96,97}
CFH mutations	20-52	66-80
CFH autoantibodies and/or CFHRI-3 deletions	5-10	30-63
CFI mutations	4-10	50-72
THBD mutations	3-10	54-60
C3 mutations	2-10	56-67
CFB mutations	1-4	70
Isolated MCP mutations	5-15	6-38
Combined MCP mutations	2	47
DGKE mutations	~27	46
NO IDENTIFIED MUTATIONS	30-50	32-50