

# Anemia, trombocitopenia e insufficienza renale acuta nel lattante: ricordiamoci della sindrome uremico emolitica atipica

Maura Carabotta<sup>1</sup>, Rita Capanna<sup>2</sup>, Daniela Trotta<sup>2</sup>, Maurizio Aricò<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Chieti  
<sup>2</sup> UOC Pediatria Medica, ASL Pescara

## Caso clinico

Una lattante di 6 mesi, con anamnesi negativa, è giunta presso il pronto soccorso pediatrico per la comparsa, nell'arco di poche ore, di ittero isolato. Nella settimana precedente aveva effettuato la vaccinazione antimeningococcica, seguita da lieve puntata febbrile isolata. All'esame fisico la bambina era in discrete condizioni generali, con parametri vitali stabili, senza segni di disidratazione. Gli esami ematici mostravano anemia, trombocitopenia, iperbilirubinemia indiretta, incremento dell'LDH e modico rialzo della PCR [Tabella 1]. Nell'ipotesi di anemia emolitica, veniva eseguito lo striscio venoso periferico, con conferma di aniso-poichilocitosi e rari schistociti; test di Coombs diretto/indiretto negativo e aptoglobina indosabile. Nel sospetto di una microangiopatia trombotica, è stato dosato il fattore ADAMTS13, risultato >30%; negatività della ricerca di anticorpi anti-ADAMTS13. Esclusa l'ipotesi di sindrome di Moschowitz, si è posta diagnosi di sindrome uremico-emolitica; nel frattempo si è evidenziata una iniziale alterazione della funzionalità renale, con creatinina ai limiti superiori del range per età [Tabella 2] e riscontro di ridotta differenziazione cortico-midollare all'ecografia renale, segnali di iniziale danno corticale renale.

Tabella 1. Esami ematici all'ingresso

|                      |                                     |
|----------------------|-------------------------------------|
| WBC                  | 11,6 <sup>10</sup> <sup>3</sup> U/l |
| HB                   | 9,3 g/dl                            |
| MCV                  | 74 fL                               |
| PLT                  | 70 <sup>10</sup> <sup>3</sup> U/l   |
| Creatinina           | 0,42 mg/dl                          |
| Azotemia             | 42 mg/dl                            |
| GOT                  | 84 U/l                              |
| GPT                  | 30 U/l                              |
| LDH                  | 1027 U/l                            |
| Bilirubina tot.      | 4,49 mg/dl                          |
| Bilirubina indiretta | 4 mg/dl                             |
| Proteine totali      | 6,4 g/dl                            |
| PCR                  | 1,72 mg/dl                          |

Tabella 2. Esame urine in terza giornata

|                 |           |
|-----------------|-----------|
| Colore          | giallo    |
| Aspetto         | limpido   |
| Glucosio        | 50 mg/dl  |
| Bilirubina      | assente   |
| pH              | 6,5       |
| Proteine        | 100 mg/dL |
| Emoglobina      | >1 mg/dL  |
| Chetoni         | assenti   |
| Urobilinogeno   | no        |
| Nitriti         | assenti   |
| Leucociti       | assenti   |
| Peso specifico  | 1005      |
| Acido ascorbico | negativo  |
| Eritrociti      | 575       |
| Leucociti       | 24        |

Nel corso del ricovero la piccola ha manifestato alcuni episodi di diarrea. Lo studio delle feci con PCR ha documentato la presenza di genoma di E. Coli Enteroaggregante, ceppo non patognomonico di forme di sindrome uremico-emolitica (SEU) tipica, in quanto non produttore di tossina di Shiga. Pertanto, nell'ipotesi di una forma atipica di SEU, è stato effettuato il dosaggio sierico dell'omocisteina, risultata nella norma, e del complemento sierico (C3 e C4), risultati ridotti rispetto ai valori normali. Sulla base della diagnosi di SEU atipica, è stato avviato lo studio genetico sul trio (bambina e genitori) presso altro istituto per la ricerca di mutazioni a carico dei fattori regolatori complemento (CFB, CFH, CFHR1-5, CFI, MCP), fattori del complemento (C3, C5), ADAMTS13, tromboomodulina (THBD) e infine per i geni MMACHC e DGKE, al fine di escludere anche altre forme di SEUa genetiche non complemento-mediate.

Nei giorni a seguire si è verificato un peggioramento progressivo della funzionalità renale, con comparsa di ipoprotidemia, edemi declivi e periorbitario, con incremento della pressione arteriosa (>75° centile per età), per cui è stato necessario avviare una terapia con furosemide e nifedipina. La piccola, inoltre, è andata incontro ad anemizzazione grave (Hb 5,6 mg/dl) per cui è stata sottoposta a trasfusione di emazie concentrate; nel frattempo persisteva la trombocitopenia. Per peggioramento del quadro con deterioramento della funzionalità renale [Tabella 3], persistenza di proteinuria, ematuria e glicosuria, la piccola è stata trasferita a un centro di riferimento di nefrologia e dialisi pediatrica per l'esecuzione di biopsia renale. L'esame istologico ha mostrato reperti diagnostici di microangiopatia trombotica, con glomerulopatia da depositi di C3, confermata all'immunofluorescenza.

La piccola è stata trattata con terapia steroidea ed Eculizumab, previa vaccinazione per batteri capsulati e antibiotico-profilassi con amoxicillina (10 mg/kg/die). Al fine di escludere le forme autoimmuni e complemento-indipendenti di SEU atipica, sono stati dosati anticorpi anti-fattore H, vitamina B12, acido metil-malonico, tutti risultati nel range di normalità. Nel frattempo, il risultato dell'indagine genetica confermava la presenza della variante c.1049A>T (p. Lys350Met) in eterozigosi a carico del gene fattore B del complemento (MIM\*138470. Complement Factor B; CFB). La variante, di incerto significato patogenetico, non è presente nei genitori e quindi è da considerarsi de-novo; inoltre non è presente nei database di popolazione, né descritta in pazienti affetti da SEUa o glomerulopatia da depositi di C3. Veniva identificata inoltre una mutazione in omozigosi del gene che codifica per

**Tabella 3. Esami ematici ed esame urine in sesta giornata indicativi di peggioramento della funzionalità renale**

| Esami ematici   |                          | Esame urine           |                     |
|-----------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|
| WBC             | 10,9*10 <sup>3</sup> U/L | Colore                | rosso               |
| HB              | 9,8 g/dl                 | Aspetto               | leggermente torbido |
| MCV             | 79,5 fL                  | Glucosio              | 100 mg/dl           |
| PLT             | 73*10 <sup>3</sup> U/l   | Bilirubina            | assente             |
| Creatinina      | 1,02 mg/dl               | pH                    | 8                   |
| Azotemia        | 42 mg/dl                 | Proteine              | 100 mg/dL           |
| GOT             | 85 U/l                   | Emoglobina            | 0,1 mg/dL           |
| GPT             | 23 U/l                   | Chetoni               | assenti             |
| LDH             | 1806 U/l                 | Urobilinogeno         | assente             |
| Proteine totali | 3,75 mg/dl               | Nitriti               | assenti             |
| Albumina        | 19,6                     | Leucociti             | assenti             |
| PCR             | 10,1 mg/dl               | Peso specifico        | 1009                |
|                 |                          | Acido ascorbico       | negativo            |
|                 |                          | Eritrociti            | 20841               |
|                 |                          | Leucociti             | 1012                |
|                 |                          | Proteinuria           | >8859,0 mg/die      |
|                 |                          | Glicosuria delle 24 h | 354,9 mg/die        |

**Tabella 4. Schema infusionale di Eculizumab per l'induzione e il mantenimento [1]**

| Peso (kg)   | Dose di Eculizumab (mg) |             |              |              |              | Mantenimento (mg/settimana) |
|-------------|-------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------------|
|             | Induzione               |             |              |              |              |                             |
|             | Settimana 1             | Settimana 2 | Settimana 3* | Settimana 4* | Settimana 5* |                             |
| da 5 a <10  | 300                     | 300         | -            | -            | -            | 300/3 settimane             |
| da 10 a <20 | 600                     | 300         | -            | -            | -            | 300/2 settimane             |
| da 20 a <30 | 600                     | 600         | 600          | -            | -            | 600/2 settimane             |
| da 30 a <40 | 600                     | 600         | 900          | -            | -            | 900/2 settimane             |
| oltre 40    | 900                     | 900         | 900          | 900          | 1200         | 1200/2 settimane            |

\*Il trattamento di mantenimento deve essere iniziato nelle settimane contrassegnate con "-".

la Membrane Cofactor Protein (MCP) (aplotipo MCP-GGA-AC), identificata come fattore di suscettibilità per SEU atipica. La piccola è stata dimessa dopo tre settimane di ricovero, con normalizzazione della funzionalità renale e riduzione di proteinuria ed ematuria; ha proseguito le somministrazioni di Eculizumab (300 mg/dose e.v.) presso l'ospedale di provenienza, con cadenza inizialmente trisettimanale e successivamente bisettimanale al raggiungimento dei 10 kg di peso [Tabella 4].

**Discussione**

Le forme atipiche rappresentano circa il 20% di tutte le forme di sindrome emolitico-uremica. La SEUa si manifesta in età più precoce delle forme tipiche: il 75% dei casi sotto i 2 anni, il 20% sotto i 6 mesi [1]. La presentazione clinica prevede la triade classica di anemia, trombocitopenia e insufficienza renale acuta; possono essere presenti sintomi neurologici o gastrointestinali come più comuni manifestazioni extra-renali [1]. La presentazione con un quadro clinico incompleto e progressivo può determinare ritardi diagnostici e quindi terapeutici.

Nel 70% dei casi di SEUa si tratta di forme complemento-mediate, genetiche (sporadiche o ereditarie), legate a mutazioni dei fattori regolatori del complemento (CFH, CFI, CFB, MCP); prognosticamente sfavorevoli sono le mutazioni loss-of-function dei fattori inibitori H e I, mentre le mutazioni a carico della MCP, presente sulla membrana cellulare, sono prevalenti in età pediatrica e associate a un minor tasso di recidive [1-2]. Le rimanenti sono forme autoimmuni, da anticorpi anti-CFH [Figura 1; 1].

La via alternativa del complemento è principalmente coinvolta nella patogenesi: basterà la presenza di un fattore trigger, in genere un episodio infettivo di natura batterica o virale a determinare l'iper-attivazione del complemento [3]. Non è quindi sorprendente la recente segnalazione di un ruolo trigger anche per l'infezione da SARS-CoV-2 [3].

Normalmente, nella via alternativa, C3b viene inattivato dai regolatori del complemento, impedendo così la formazione di C5a e del complesso di attacco alla membrana (MAC, ossia C5a-9). Nel caso di un loro difetto funzionale, da mutazioni genetiche o in presenza di autoanticorpi, C3b risulterà costantemente attivato generando C5a e MAC, da cui il danno endoteliale, l'infiammazione, l'attivazione della cascata di coagulazione e la conseguente microangiopatia trombotica [Figura 2; 4].

Di fronte a un paziente con sintomi che fanno pensare a un'anemia emolitica (ittero, anemia, incremento dell'LDH, aptoglobina indosabile o ridotta, iperbilirubinemia indiretta, reticolocitosi), eventualmente associati a trombocitopenia, si pone il sospetto di una microangiopatia trombotica. È importante tuttavia fare diagnosi differenziale con le diverse forme di anemia emolitica laddove inizialmente il quadro clinico è più sfumato e gli esami di laboratorio non mostrano un'alterazione della funzionalità renale. La presenza di schistociti allo striscio venoso periferico e il test di Coombs diretto/indiretto negativo depongono per la presenza di una microangiopatia trombotica. Sarà poi necessario eseguire il dosaggio dell'attività del fattore ADAMTS13 (che dovrà risultare superiore al 5%) e il titolo degli anticorpi anti-ADAMTS13 [5], allo scopo di escludere la porpora trombotica trombocitopenica. In presenza di diarrea sarà utile effettuare la coprocultura per batteri e la ricerca me-

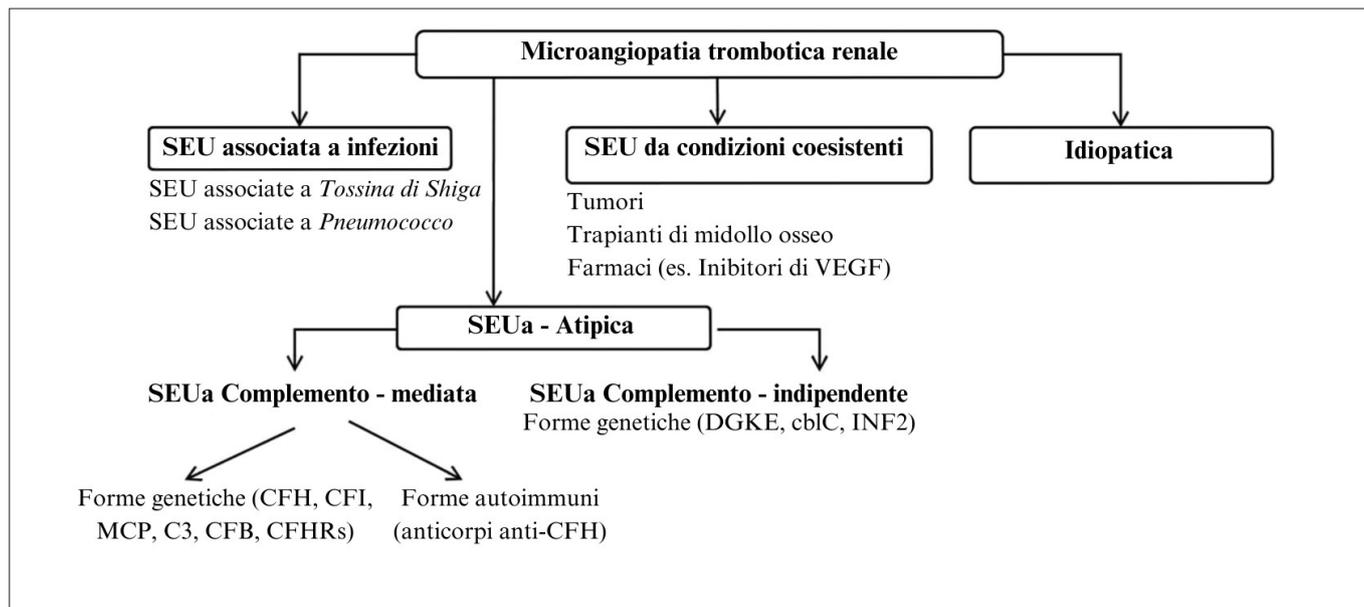


Figura 1. Classificazione delle sindromi uremico-emolitiche del 2021 [1].

diante PCR della verotossina fecale, responsabile delle forme di SEU tipica. Successivamente i dosaggi dei frammenti e fattori del complemento (C3, C4, bB, CFH, CFI), della vitamina B12, dell'omocisteina, dell'acido metilmalonico permetteranno di discriminare tra le varie cause di SEU atipica [Figura 1; 1].

L'indagine genetica non è dirimente per la diagnosi né necessaria per l'avvio della terapia. Tuttavia, risulta utile effettuarla tempestivamente, soprattutto nei casi di recidive frequenti o nelle forme familiari non sincrone. L'identificazione della mutazione che causa un difetto a carico di uno specifico fattore, permette di definire la prognosi in termini di rischio di recidiva e la scelta del donatore in caso di trapianto renale o epato-renale [Figura 3; 6].

Nel nostro caso specifico, in considerazione della riduzione degli indici di emolisi su sangue con il persistere di valori alterati di creatinina (1,3 mg/dl), è stata eseguita la biopsia renale, con conferma istologica della microangiopatia trombotica e riscontro di alcuni glomeruli caratterizzati da ipercellularità mesan-

giale ed endocapillare, proliferazione extracapillare e positività all'immunofluorescenza per C3, suggestivi per una concomitante glomerulopatia da C3, un sottotipo di glomerulonefrite membranoproliferativa (MPGN) in cui il danno glomerulare è mediato dall'iperattivazione della via alternativa del complemento come conseguenza di mutazioni a carico dei fattori regolatori del complemento o autoanticorpi contro il fattore H [7]. Il trattamento delle SEU atipiche, così come per quelle tipiche, si basa nella fase acuta sulla terapia idratante con soluzione fisiologica, per ridurre il rischio di insufficienza renale e della vasculopatia trombotica, per cui risulta efficace soprattutto se effettuata molto precocemente [1].

In caso di anemizzazione grave che richieda la trasfusione (Hb <7 mg/dl oppure Hb <7,5 mg/dl con riduzione di almeno 2 g di Hb nell'arco delle precedenti 24 ore – criteri EUSTEC), è sempre preferibile utilizzare emazie concentrate 1. L'efficacia dell'uso di eritropoietina ricombinante umana sia nella fase acuta che nella fase cronica della SEU non ha ancora trovato

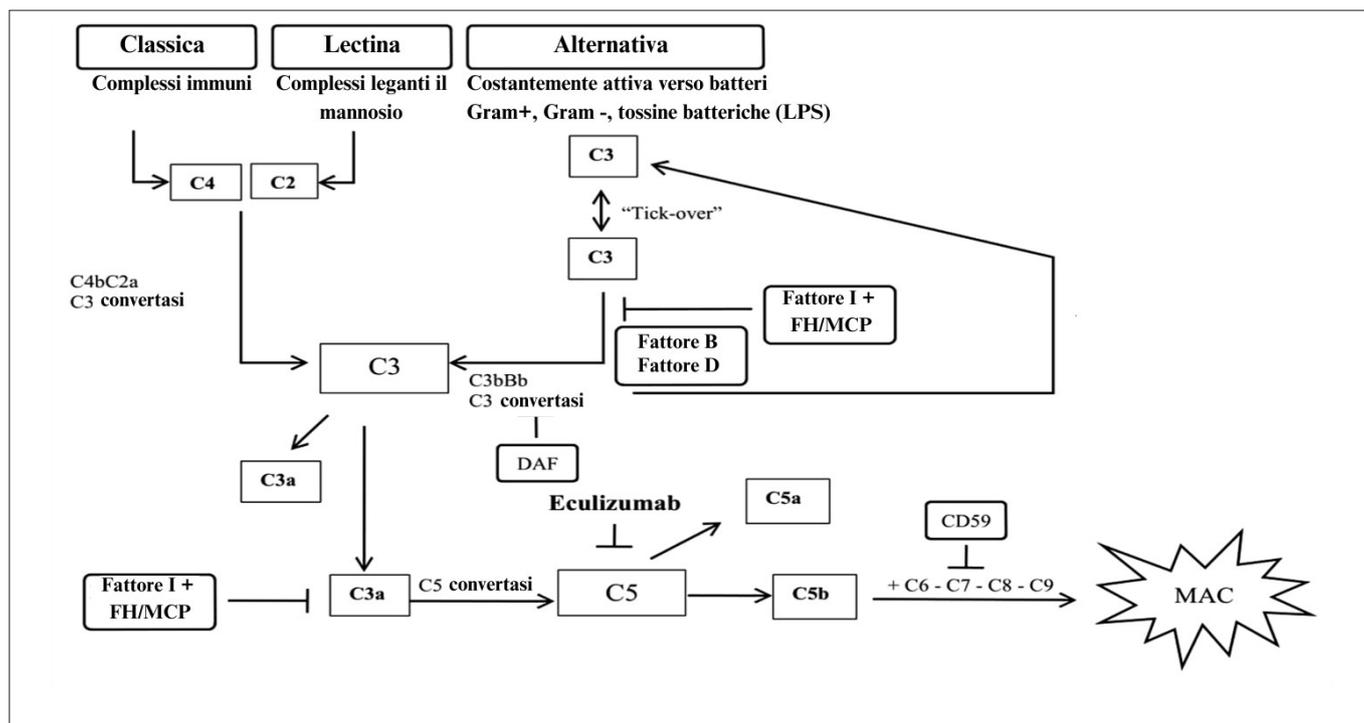


Figura 2. Sistema del complemento e proteine regolatorie [1].

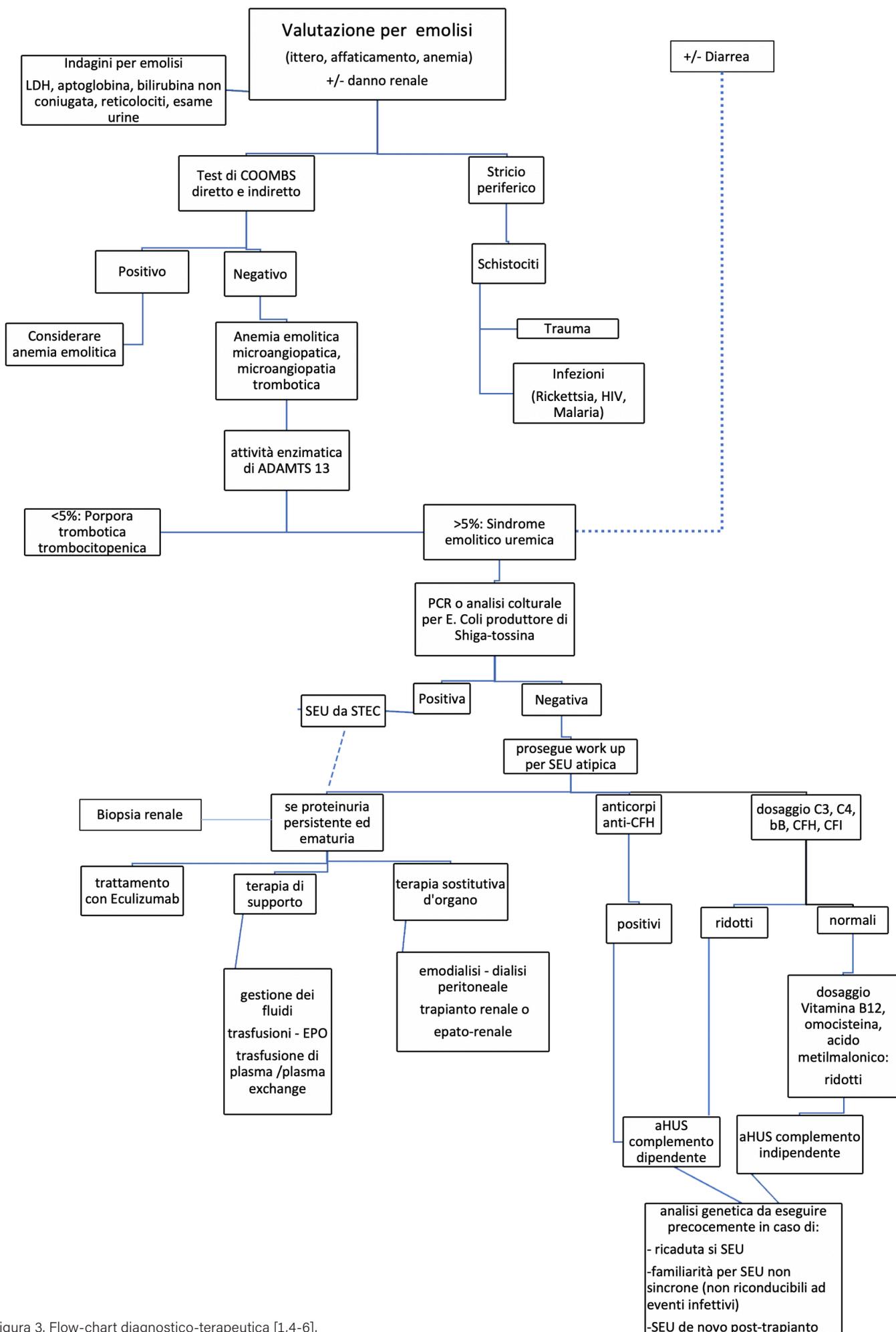


Figura 3. Flow-chart diagnostico-terapeutica [1,4-6].

una dimostrazione di reale efficacia [8]. L'utilizzo di infusioni di plasma ovvero di plasma-exchange ha una indicazione limitata alla fase iniziale, in cui può favorire il wash-out dei fattori pro-trombotici e pro-infiammatori, seguito però da frequenti recidive a lungo termine [9]. Le trasfusioni di piastrine non sono raccomandate, in quanto incrementano il rischio di formazione di trombi [1].

Nei casi di insufficienza renale non responsiva alla terapia medica, si rende necessario il supporto della emodialisi o della dialisi peritoneale [10]. In caso di insufficienza d'organo irreversibile, va considerato il trapianto renale; interessante l'osservazione dell'utilizzo di trapianto epato-renale, basato sul razionale che alcuni dei fattori del complemento alterati sono sintetizzati dal fegato [1,8].

Nelle forme di SEU atipica è oggi possibile utilizzare un trattamento target: Eculizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato in grado di legare il frammento C5 del complemento. La sua somministrazione può evitare il clivaggio di C5 in C5a e C5b, prevenendo la formazione del MAC. L'introduzione di questo farmaco biologico ha avuto un impatto notevole sulla prognosi della SEUa, con una riduzione della comparsa di insufficienza renale terminale dal 30-40% dei casi al 5-10% [1]. Approvato dall'EMA e dalla FDA per il trattamento della SEU nel 2011, è raccomandato come trattamento di prima linea da somministrare preferibilmente entro 24 ore dalla comparsa dei sintomi, nel caso si sospetti una forma atipica [11]. Se non è subito disponibile si può avviare terapia con plasma exchange o infusione di plasma e successivamente passare a Eculizumab. L'obiettivo di tale terapia è garantire una ottimale inibizione del complemento, valutabile mediante la misurazione del 50% dell'attività emolitica del complemento (inibizione ottimale: attività del complemento <10%) oppure con il dosaggio del livello plasmatico del complemento (livello ottimale >100 µg/mL) [11].

La limitazione dell'attività del complemento, indotta da Eculizumab, è certamente vantaggiosa per il bambino con SEUa ma può determinare una maggiore suscettibilità a infezioni. Pertanto, è raccomandabile eseguire la vaccinazione per batteri capsulati all'inizio del trattamento; tuttavia, il più delle volte l'esordio è improvviso e il trattamento deve essere avviato il più precocemente possibile, per cui è possibile effettuare la vaccinazione in concomitanza dell'inizio della terapia in associazione ad antibiotico-profilassi (penicillina V/amoxicillina/eritromicina). Sono stati segnalati alcuni casi di resistenza al trattamento con Eculizumab, legati per lo più a dosaggi insufficienti, mutazioni di C5 o perdita urinaria in pazienti proteiurici. I limiti all'utilizzo del farmaco sono i costi, la somministrazione esclusiva per via endovenosa e la scarsità di dati riguardo la durata del trattamento. La sospensione del trattamento può essere considerata iniziando con un aumento dell'intervallo tra le somministrazioni in pazienti che vanno incontro a normalizzazione della funzionalità renale, che abbiano mutazioni prognosticamente favorevoli e che abbiano effettuato almeno 6 mesi di terapia. In pazienti di età inferiore ai 3/5 anni, per la maggiore suscettibilità a infezioni stagionali che possono fungere da trigger, sembrerebbe auspicabile posticipare la sospensione. La sospensione non va invece considerata in pazienti che hanno avuto un esordio con insufficienza renale o manifestazioni extra-renali, che non hanno raggiunto la normalizzazione della funzionalità renale e che sono a maggior rischio di recidive [1].

Eculizumab è stato studiato anche nel trattamento delle forme tipiche di sindrome uremico-emolitica, nelle quali ha mostrato efficacia prevalentemente in presenza di manifestazioni neurologiche. Sono necessari ulteriori studi prospettici a lungo termine per avere dati più solidi circa il tempo di follow-up dei pazienti inclusi [12]. Promettente lo sviluppo di un anticorpo monoclonale umanizzato di seconda generazione, il Ravilizumab, che agisce alla stessa maniera di Eculizumab

legando con maggiore affinità il frammento C5 del complemento e con un'azione più duratura, tale quindi da permettere infusioni più distanziate, ogni 2-8 settimane. Il suo utilizzo è stato valutato sia in pazienti che avevano precedentemente effettuato Eculizumab sia in pazienti mai trattati in precedenza, con buona tollerabilità ed efficacia [3].

## Conclusioni

Il caso descritto mette in luce che la sindrome emolitico-uremica atipica (SEUa) rappresenta ancora oggi una sfida diagnostica a causa della sintomatologia più sfumata, in cui l'assenza di diarrea può creare ritardi. È importante, dunque, sin da subito una corretta gestione delle funzioni vitali e delle complicanze secondarie al danno d'organo e, non appena il sospetto diagnostico si fa più fondato, è bene iniziare quanto prima la terapia biologica. L'inizio di tale terapia comporta una adeguata profilassi vaccinale da associare eventualmente a un'antibiototerapia a causa dell'aumentata suscettibilità a infezioni, tuttavia non ci sono attualmente controindicazioni a proseguire con il normale calendario vaccinale. Sebbene sia l'unica forma per la quale si dispone di una terapia target che ha cambiato la storia della malattia, ci sono ancora limitazioni nell'accesso al trattamento in alcuni centri ospedalieri a causa del costo elevato; inoltre, sono necessari ulteriori studi di follow-up a lungo termine riguardo la durata del trattamento [13]. ■

## Bibliografia

1. Bora G, Özalın F. Hemolytic Uremic Syndrome in Children. *Turk Arch Pediatr* 2021; 21128.
2. Fremaux-Bacchi V, Moulton EA, Kavanagh D, et al. Genetic and functional analyses of membrane cofactor protein (CD46) mutations in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Jul;17(7):2017-25.
3. Rupesh R, Vijayvargiya N, Khooblal A, et al. Pediatric Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Advances. *Cells*. 2021 Dec 18;10(12):3580.
4. May HN, Mathew JJ, Denunzio TM, Carmichael MG. Diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome and response to eculizumab therapy. *Hawaii J Med Public Health*. 2014 Sep;73(9 Suppl 1):22-24.
5. Phillips J, Henderson AC. Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis. *Am Fam Physician*. 2018 Sep 15;98(6):354-361.
6. Marina N, Bresin E, Mele C, et al. Genetic Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome. *Gene Reviews®*. University of Washington, 2021.
7. Dragon Durey MA, Sinha A, Togarsimalemath SK, et al. Anti-complement-factor H-associated glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Sep;12(9):563-578.
8. Walsh PR, Johnson S. Treatment and management of children with haemolytic uraemic syndrome. *Arch Dis Child*. 2018 Mar;103(3):285-291.
9. Waters AM, Licht C. aHUS caused by complement dysregulation: new therapies on the horizon. *Pediatr Nephrol*. 2011 Jan;26(1):41-57.
10. Grisaru S. Management of hemolytic-uremic syndrome in children. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2014 Jun 12;7:231-9.
11. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol*. 2016 Jan;31(1):15-39.
12. Walsh PR, Johnson S. Eculizumab in the treatment of Shiga toxin hemolytic uraemic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2019 Sep;34(9):1485-1492.
13. Fakhouri F, Loirat C. Anticomplement Treatment in Atypical and Typical Hemolytic Uremic Syndrome. *Semin Hematol*. 2018 Jul;55(3):150-158.