



Genska analiza sustava komplementa u odraslih pacijenata s elementima trombotične mikroangiopatije – prikaz serije slučajeva

Gene analysis of the complement system in adult patients with elements of thrombotic microangiopathy – case series

Dino Kasumović^{1,2} , Nikola Zagorec^{1,2}, Miroslav Tišljarić³, Ivica Horvatić^{1,2,4}, Petar Šenjug^{5,6}, Danica Galešić Ljubanović^{2,5,6}, Krešimir Galešić¹

¹Zavod za nefrologiju i dijalizu, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

²Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

³Department of Internal Medicine, Galway University Hospital, Galway, Irska

⁴Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

⁵Odjel za nefropatologiju i elektronsku mikroskopiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

⁶Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Deskriptori

TROMBOTIČNE MIKROANGIOPATIJE – genetika, patofiziologija;
ATIPičNI HEMOLITIČKO-UREMIJSKI SINDROM – genetika, patofiziologija; BUBREG –patologija; TROMBOTIČNA TROMBOCITOPENIČNA PURPURA – patofiziologija; ADAMTS13; ALTERNATIVNI PUT AKTIVACIJE KOMPLEMENTA – genetika; BJELANČEVINE SUSTAVA KOMPLEMENTA – genetika; GENSKO TESTIRANJE

Descriptors

THROMBOTIC MICROANGIOPATHIES – genetics, pathophysiology;
ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME – genetics, pathophysiology; KIDNEY – pathology;
ANEMIA, HEMOLYTIC – etiology;
PURPURA, THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC – pathophysiology; ADAMTS13 PROTEIN;
COMPLEMENT PATHWAY, ALTERNATIVE – genetics;
COMPLEMENT SYSTEM PROTEINS – genetics;
GENETIC TESTING

SAŽETAK. Trombotična mikroangiopatija (TMA) je patohistološki entitet obilježen stvaranjem tromba u mikrocirkulaciji, a klinički se definira posljedičnom mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom (MAHA) i trombocitopenijom uz oštećenje ciljnih organa, najčešće akutnim oštećenjem bubrega (ABO). Određivanje etiologije može biti složeno. Oblik bolesti trombotična trombocitopenična purpura (TTP) uzrokovan je smanjenom aktivnošću proteaze ADAMTS13. Većina drugih oblika tzv. sekundarne TMA, vezana je etiološki uz neki patogeni proces u organizmu, najčešće hipertenzivnu krizu. Međutim, i u tim stanjima moguć je poremećaj sustava komplementa, što je glavno etiološko obilježje primarnog atipičnog hemolitičko-uremijskog sindroma (aHUS). Zbog toga je važna serološka analiza sustava komplementa, a u nekim slučajevima i njegova genska analiza. Prikazujemo karakteristike deset pacijenata kod kojih su prisutni laboratorijski i/ili patohistološki elementi TMA i u kojih je učinjena i serološka i genska analiza sustava komplementa. U troje pacijenata nađene su patogene ili vjerojatno patogene genske varijante povezane s dijagnozom primarnog aHUS-a. Svi oni su imali MAHA i ABO te patohistološki dokazanu TMA. Kod druge skupine od troje pacijenata nađena je na biopsiji bubrega TMA, ali su svi ostali rezultati (uključujući gensku analizu sastavnica komplementa) bili neupadljivi. Radilo se o pacijentima koji su se prezentirali hipertenzivnom krizom, a testiranje je provedeno u svrhu predtransplantacijske obrade. Kod preostalih četvero pacijenata pronađene su rizične genske varijante za razvoj aHUS-a. Svi ovi pacijenti (osim jednog) imali su MAHA + ABO. U dva pacijenta nije nađena TMA u tkivu bubrega, no biopsija je učinjena mjesec dana nakon akutne bolesti. Genska analiza sustava komplementa preporučuje se učiniti ako nema jasnoga sekundarnog uzroka TMA ili ako je važna za određivanje terapije, odnosno za transplantaciju bubrega.

SUMMARY. Thrombotic microangiopathy (TMA) is a pathohistological entity characterized by the formation of thrombi in microcirculation, with clinically defined consequent microangiopathic hemolytic anemia (MAHA) and thrombocytopenia with damage to target organs, most often acute kidney injury (AKI). Determining the etiology can be complex. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is caused by reduced activity of the protease ADAMTS13. Most other forms, so-called secondary TMA, are etiologically linked to some pathogenic process in the body, most often a hypertensive crisis. Even in these conditions, a disorder of the complement system is possible, which is the main etiological feature of primary atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). This is why serological analysis of the complement system, and in some cases its genetic analysis, is important. We present the characteristics of ten patients in whom laboratory and/or pathohistological elements of TMA were present, and in whom both serological and gene analysis of the complement system were performed. Genetic pathogenic or likely pathogenic variants associated with the diagnosis of primary aHUS were found in three patients. All of them had MAHA and AKI and pathohistologically proven TMA. In another group of three patients, TMA was found

Ustanove u kojima je rad napravljen:
Zavod za nefrologiju i dijalizu, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb
Odjel za nefropatologiju i elektronsku mikroskopiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

✉ Adresa za dopisivanje:

Dino Kasumović, dr. med., <https://orcid.org/0000-0002-8858-4789>

Zavod za nefrologiju i dijalizu, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Dubrava, Avenija Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, e-pošta: dino.kasumovic9@gmail.com

Primljeno 14. ožujka 2024., prihvaćeno 31. svibnja 2024.

on kidney biopsy, but all other results (including gene analysis of complement components) were unremarkable. These were patients who presented with hypertensive crisis, and the testing was done for the purpose of pre-transplant workup. In the remaining four patients, genetic risk variants for the development of aHUS were found. All these patients (except one) had MAHA + AKI. In two patients no TMA was found in the kidney tissue – but the biopsy was done one month after the acute illness. Gene analysis of the complement system is recommended if there is no clear secondary cause of TMA or if it is important for determining therapy, or for kidney transplantation.

Trombotična mikroangiopatija (TMA) je patohistološki entitet karakteriziran oštećenjem endotela i trombima u malim krvnim žilama. Klinički se u aktivnoj fazi u pravilu prezentira mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom (MAHA) i trombocitopenijom te oštećenjem ciljnih organa, ponajprije bubrega, a potom mozga.¹ TMA je najbolje podijeliti prema etiologiji, iako to u nekim slučajevima nije jednostavno. Relativno lako se može izdvojiti trombotična trombocitopenična purpura (TTP) koja je definirana smanjenom aktivnošću proteaze ADAMTS13 (češće stečeno) ili stvaranjem protutijela na ADAMTS13.² Prema novijoj klasifikaciji svi ostali slučajevi (kada je aktivnost ADAMTS13 uredna) generalno se mogu nazvati hemolitičko-uremijski sindrom (HUS).³ Mogu se javiti u tzv. tipičnom obliku (tHUS) uz dijarejalni sindrom uzrokovan Shiga toksin-producirajućim bakterijama (*E. coli*, *S. dysenteriae*).² Među ostalim oblicima razlikujemo primarne oblike bolesti – atipični HUS (aHUS), u kojima je poremećaj u aktivaciji sustava komplementa alternativnim putem (AP) jasan uzrok bolesti, te sekundarne oblike bolesti – sekundarni HUS (ranije znan samo kao sekundarna TMA), koji mogu također biti dijelom vezani uz poremećaj sustava komplementa, ali su svakako vezani uz bar još jedno patogeno stanje.^{2,3} S obzirom na to da se ponegdje i sekundarni oblici HUS-a nazivaju atipičnima jer nisu tipični, u tekstu je kod kratice aHUS naznačeno o kojem se obliku radi gdje je to potrebno. Brojna su sekundarna stanja koja se povezuju s TMA (čine 90% slučajeva), bilo kao etiološki, bilo kao provocirajući čimbenici. Stanja koja se danas češće povezuju s mogućim podležućim poremećajem u sustavu komplementa jesu neregulirana arterijska hipertenzija (često u vidu hipertenzivne krize), trudnoća i transplantacija bubrega, a ona u kojima je on rjeđe prisutan jesu infekcije (kada se misli na glavni uzrok bolesti, a ne okidač), određeni lijekovi (npr. kinin, neki imunosupresivi i antitumorski agensi), tumorske bolesti (najčešće adenokarcinomi), autoimunsne bolesti (najčešće uz sistemski eritematozni lupus) i transplantacija hematopoetskih matičnih stanica.^{1,3} Vrlo rijetki oblici TMA mogu biti vezani za posebne poremećaje proteina koji nisu iz sustava komplementa – npr. mutacije za diacylglycerol kinazu epsilon (DGKE).⁴ Komplementom posredovana TMA također je noviji pojam koji se temelji na tome je li u podlozi TMA poremećaj komplementa ili ne, iako je to često teško odrediti.³ Prototip takve bole-

sti je primarni aHUS, gdje je kao uzrok bolesti identificirano više od 600 mogućih podležućih genskih varijanti⁵, a on sam je izrazito rijetka bolest². Genske varijante su uglavnom vezane za proteine sustava komplementa kao što su faktor H (FH), faktor I (FI) i MCP (engl. *membrane cofactor protein*, kodiran genom *CD46*), koje dovode do smanjene regulacije aktivnosti AP komplementa, i/ili genske varijacije za C3 i faktor B (FB) koje dovode do jačanja funkcije tog puta. Posljedica pretjerane aktivnosti AP komplementa jest oštećenje endotela krvnih žila, što dalje uzrokuje promjene karakteristične za TMA.⁵ U pacijenata s kliničkim te laboratorijskim i/ili histološkim elementima akutne TMA u pravilu se nakon utvrđivanja uredne aktivnosti za ADAMTS13 vrši serološka analiza sustava komplementa. Potom se u određenom broju slučajeva, kad postoji sumnja na gensku podlogu bolesti ili je taj podatak bitan za daljnje liječenje, provodi i analiza gena koji kodiraju sastavnice sustava komplementa i regulatorne proteine, najčešće tehnologijom sekvenciranja nove generacije.⁶ Cijela analiza je bitna ako želimo pobliže zaključiti o etiologiji bolesti, iako se s liječenjem kreće odmah ako je klinička slika izražena. Za TTP i autoprotutijelima posredovanu TMA bitne su terapijske izmjene plazme (TIP) i glukokortikoidi (ponekad i drugi imunosupresivi, kao npr. rituksimab), a kod sumnje na primarni aHUS kreće se s inhibitorima komplementa kao što su ekulizumab ili ravulizumab. Sekundarni slučajevi uglavnom se liječe uklanjanjem provocirajućeg čimbenika i suportivno.² Cilj je ovog rada prikazati slučajeve pacijenata s elementima TMA (klinički te laboratorijski i/ili patohistološki), što je samo po sebi rijetka bolest, kod kojih je osim serološke analize sustava komplementa učinjena i genska, što je još rjeđe. Riječ je o heterogenoj skupini pacijenata te je stoga još važnije istaknuti ulogu genske analize komponenti komplementa za njihovo liječenje i praćenje.

Metode

Svi pacijenti koje prikazujemo obrađeni su u Zavodu za nefrologiju i dijalizu Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu. Korišten je interni registar Zavoda pacijenata s elementima TMA, u razdoblju od deset godina (od 2013. do rujna 2023. godine), uz bolnički informacijski sustav za pretraživanje. Od svih pacijenata čiji su klinički i laboratorijski nalazi upućivali na TMA i/ili je ista nađena na biopsiji bubrega, izdvojeni su oni u kojih je učinjena i serološka i genska analiza sustava

komplementa. Bitno je napomenuti da je u svih takvih pacijenata određena aktivnost ADAMTS13 kojom je isključen TTP (gdje je bilo potrebno određena su i protutijela na ADAMTS13), a u onih s dijarejalnim sindromom i negativnim nalazom Shiga toksina iz stolice isključen je tHUS. U pacijenata su analizirane sljedeće karakteristike: prisutnost laboratorijskih znakova MAHA, trombocitopenije i bubrežnog oštećenja, histološka obilježja TMA na biopsiji bubrega, rezultati serološke analize komplementa – dokaz aktivacije, potrošnje i/ili disregulacije u sustavu komplementa te rezultati genske analize njegovih sastavnica. Koliko je bilo moguće, prikazani su i bubrežni ishodi u pacijenata s vremenskim odmakom u odnosu na trenutak prezentacije bolesti. Potrebno je napomenuti da je serološka analiza provedena u većeg broja naših pacijenata s TMA, a genska u onih sa sumnjom na genetsku podlogu bolesti (zbog kliničke slike) ili su ti rezultati bili važni za klinički tijek i terapiju. Patohistološka analiza biopata bubrega učinjena je na Odjelu za nefropatologiju i elektronsku mikroskopiju Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu, a kompletna analiza sustava komplementa učinjena je u imunološkom laboratoriju na Sveučilištu Semmelweis u Budimpešti. Serološkom analizom određivana je (pretjerana) aktivnost završnog kompleksa (porast sC5b9), potrošnja sastavnica komplementa (sniženje C3 i C4, ukupna aktivnost klasičnog te AP-a komplementa) te disregulacija AP-a (sniženje FH, FI, varijacije FB [s C3] te razina anti-FH IgG-a). Bitno je napomenuti da se ovim putem ne može testirati MCP jer on nije u tekućoj fazi, iako su promjene vezane za taj protein najčešće nakon onih u FH.² Dodatno se testiraju i C1q te anti-C1q IgG, koji su vezani uz promjene u klasičnom putu aktivacije komplementa. Tehnologijom sekvenciranja nove generacije analizirane su varijante u bitnim genima – za FH, FI, MCP, FB, C3, trombomodulin te proteine povezane s FH – FHR5 (engl. *factor H related protein 5*). Od svih varijanti dobivenih genskom analizom, prema ACMG (engl. *American College of Medical Genetics and Genomics*) jedino patogene i vjerojatno patogene varijante možemo smatrati odgovornima za bolest, dok varijante nepoznatog značenja (VUS, engl. *variant of uncertain significance*), vjerojatno benigne, ne možemo smatrati odgovornima za nastanak bolesti iako se klasifikacija varijanti u vremenu mijenja pa se VUS varijante mogu reklasificirati kao benigne ili patogene.^{6,7} Posebna su vrsta promjena DNA sekvenci polimorfizmi koji su u populaciji češći nego mutacije u užem smislu te su vezani za većinu genskih varijacija pa potom i fenotip ljudi. Ovdje se razlikuju one koje su prepoznate kao rizične varijante za aHUS, one neutralne, protektivne i one nepoznatog značaja. Posebna su skupina varijacije u haplotipovima, grupama polimorfizama koji se zajedno nasljeđuju kao jedna kopija gena.⁷

Rezultati (prikazi bolesnika)

U navedenom razdoblju registrirano je deset pacijenata s traženim podacima, sedam muškaraca i tri žene, raspona dobi od 21 do 60 godina u trenutku prezentacije bolesti, uz jednog pacijenta u kojega podatci nisu bili do kraja dostupni pa nije prikazan. **Tablica 1** prikazuje obilježja pacijenata redom kako se pojavljuju i u nastavku teksta.

Prvi pacijent je primljen zbog hipertenzivne krize, a na biopsiji bubrega koja je učinjena zbog nejasne kronične bubrežne bolesti (KBB) stadija G3bA3 (prema klasifikaciji KDIGO koja će dalje biti korištena⁸) nađeni su znakovi akutne i kronične TMA. Nije bilo elemenata MAHA niti trombocitopenije. Serološki nalaz sustava komplementa bio je neupečatljiv (nađena je samo pojačana aktivacija završnog kompleksa), no s obzirom na izražene patohistološke znakove TMA te potencijalnu transplantaciju bubrega učinjena je genska analiza. Pronađen je jedan polimorfizam za FH koji, u kliničkom kontekstu i samostalno, predstavlja uzročno negativan genetski nalaz. Uz terapiju za KBB, nakon godine dana stadij KBB-a je G3bA1.

Drugi pacijent se javio na pregled nakon što mu je sedam mjeseci prije toga na biopsiji bubrega (učinjenoj zbog kroničnoga nefritičkog sindroma u drugoj ustanovi) utvrđena IgA-nefropatija uz akutno tubularno oštećenje te znakove TMA. U laboratorijskim nalazima imao je anemiju (ne po tipu MAHA), a trombocitopenija je bila blaga. Dodatno su bili prisutni znakovi bubrežnog oštećenja (kreatinin 309 $\mu\text{mol/L}$, n. 64 – 104) i hipertenzivne krize. Serološka analiza sustava komplementa analizirana je iz krvi izvađene sedam mjeseci nakon biopsije bubrega te je bila uredna, a genska analiza je dala sličan rezultat kao u prethodnog pacijenta u smislu uzročne veze. Nakon terapije glukokortikoidima za IgA-nefropatiju i one za KBB nakon 30 mjeseci stadij KBB-a je G3bA3.

Treća je pacijentica s hipertenzivnom krizom po tipu maligne hipertenzije. U laboratorijskim nalazima imala je anemiju, ali ne po tipu MAHA, trombocitopeniju i bubrežno oštećenje (kreatinin 354 $\mu\text{mol/L}$, n. 49 – 90, subnephrotska proteinurija). Na biopsiji bubrega nađena je slika aktivne i kronične TMA. Serološka analiza sustava komplementa bila je negativna, a genskom analizom koja je učinjena kasnije u predtransplantacijskoj obradi pronadjen je rizičan haplotip H3 za FH. S obzirom na i tada prisutne elemente KBB-a, uz terapiju, stadij je G3bA3 nakon točno tri godine.

Četvrti je pacijent s novootkrivenom nereguliranom arterijskom hipertenzijom koji se prezentirao hipertenzivnom krizom uz akutizaciju KBB-a s proteinurijom granično nefrotskog ranga. Nije bilo laboratorijskih znakova TMA. Na biopsiji bubrega nađena je IgA nefropatija sa znakovima TMA. S obzirom na potencijalnu transplantaciju bubrega učinjena je prvo serološ-

TABLICA 1. PRIKAZ KLINIČKIH, PATOHISTOLOŠKIH I LABORATORIJSKIH KARAKTERISTIKA PACIJENATA U KOJIM JE UČINJENA GENSKA ANALIZA SUSTAVA KOMPLEMENTA

TABLE 1. OVERVIEW OF CLINICAL, HISTOPATHOLOGICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS IN WHOM THE GENE ANALYSIS OF COMPLEMENT SYSTEM WAS PERFORMED

Redni broj pacijenta, dob, spol / Patient number, age, sex	MAHA + niski Trc + BO / MAHA + low Trc + KI	TMA na biopsiji bubrega / TMA on kidney biopsy	Serološka analiza SK / Serological analysis of CS	Genska analiza SK / Gene analysis of CS	Specifična stanja / Specific conditions	Specifično liječenje / Specific treatment
1. M, 49	M0T0K1	Da/Yes	A1C0D0	P – 1 het FH	hipertenzivna kriza / hypertensive crisis	
2. M, 37	M?T?K1	Da + IgAN / Yes + IgAN	A0C0D0 (7 mj. nakon biopsije / 7 m after biopsy)	P – 1 het CD46	hipertenzivna kriza / hypertensive crisis, IgAN	
3. Ž/F, 21	M0T1K1	Da/Yes	A0C0D0	H – 1 het FH (H3)	hipertenzivna kriza / hypertensive crisis	
4. M, 36	M0T0K1	Da + IgAN / Yes + IgAN	A0C0D? (niži FI/lower FI)	P – 1 het CD46, 1 het FH	hipertenzivna kriza / hypertensive crisis, IgAN	
5. M, 46	M1T1K1	Da + pFSGS / Yes + pFSGS	A1C0D0	H – 1 hom CD46 (MCPggaac), P – 1 het FH	hipertenzivna kriza / hypertensive crisis	HD
6. M, 23	M1T1K1	Ne (biopsija nakon 1 mj.) + pFSGS/No (biopsy after 1 m) + pFSGS	A1C0D0	H – 1 het CD46 (MCPggaac), 1 het FH (H3)	infekcija / infection	PLEX COR
7. M, 50	M1T1K1	Ne (biopsija nakon 1 mj.) + ATO + pFSGS/No (biopsy after 1 m) + ATI + pFSGS	A0C0D1 – anti-FH (nakon TIP/after TPE)	H – 1 hom FH (H3), 1 het CD46 (MCPggaac) P – 2 het FB		PLEX COR RTX
8. M, 60	M1T0K1	Da/Yes	A0C0D0 (nakon TIP/after TPE)	M – 1 hom. CD46(c.286+2T>G), 1 het. FI H – 1 hom CD46 (MCPggaac), 1 het FH (H3) + 1 protective P FH	prvi relaps / 1st relapse	PLEX COR
9. Ž/F, 33	M1T1K1	Da + kronična IgAN (biopsija nakon 3 mj.) / Yes + chronic IgAN (biopsy after 3 m)	A1C0D1 – nizak FB (nakon TIP) / low FB (after TPE)	M – 1 het FI, 1 het FHR5 H – 1 het CD46 (MCPggaac) + 1 protective P FH	visok krvni tlak / high blood pressure, IgAN	HD PLEX COR RTX
10. Ž/F, 28	M1T1K1	Da (biopsija nakon 3 tjedna) / Yes (biopsy after 3 weeks)	A1C0D0	M – 1 hom CD46 (c.286+2T>G), 1 het FB H – 1 hom CD46 (MCPggaac) P – 1 het FH	drugi relaps, COVID-19 / 2nd relapse, COVID-19	PLEX COR RAV

Legenda / Key: 0 – ne postoji / does not exist, 1 – postoji / does exist, ? – granično obilježje / boundary feature; M – muško / male; Ž/F – žensko / female; MTK: MAHA (M) – mikroangiopatska hemolitička anemija / microangiopathic hemolytic anemia; Trc (T) – trombociti / thrombocytes, BO/KI (K) – bubrežno oštećenje / kidney injury; TMA – trombotična mikroangiopatija / thrombotic microangiopathy; IgAN – IgA nefropatija / IgA nephropathy; pFSGS – perihilarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza / perihilar focal segmental glomerulosclerosis; ATO/ATI – akutno tubularno oštećenje / acute tubular injury; MPGN – membranoproliferativni glomerulonefritis / membranoproliferative glomerulonephritis; SK/CS – sustav komplementa / complement system; ACD: A – aktivacija / activation, C – potrošnja / consumption, D – disregulacija / dysregulation; F – faktor / factor H, B, I; TIP/TPE – terapijska izmjena plazme / therapeutic plasma exchange; P – polimorfizam / polymorphism, H – haplotip / haplotype, M – mutacija / mutation; hom – homozigot / homozygote; het – heterozigot / heterozygote; HD – hemodijaliza / hemodialysis; COR – glukokortikoidi / glucocorticoids; RTX – rituksimab / rituximab; RAV – ravulizumab

ka analiza sustava komplementa u kojoj je nađena granična aktivacija završnog kompleksa i disregulacija u smislu nižeg FI, a potom genska analiza kojom su na-

đena dva rizična polimorfizma u genima za MCP i FH. Nakon godine i pol dana uz terapiju za arterijsku hipertenziju i KBB, pacijent je i dalje u stadiju G5 s nešto

manjom albuminurijom nego inicijalno. Planira se započinjanje peritonejske dijalize dok čeka transplantaciju bubrega.

Peti pacijent se prezentirao s hipertenzivnom krikom te s MAHA, trombocitopenijom i ABO (zbog čega je privremeno liječen i hemodijalizom). Na biopsiji bubrega nađena je nefroangioskleroza uz perihilaru fokalnu segmentalnu glomerulosklerozu (FSGS) te znakove TMA. Serološka analiza komplementa nije bila znakovita (samo povišena aktivnost završnog kompleksa), a genska analiza je ukazala na jedan rizični haplotip MCPggaac i jedan polimorfizam za FH, ali koji se ne mogu direktno povezati s bolešću. Pacijent se nastavio pratiti u drugoj ustanovi.

Šesti je mladi pacijent (23 godine) koji se prezentirao s MAHA, trombocitopenijom, ABO (kreatinin 237 $\mu\text{mol/L}$, n. 64 – 104, visoka albuminurija) te febrilitetom. Inicijalno je postavljena sumnja na TTP pa je liječen TIP-om i glukokortikoidima, no aktivnost ADAMTS13 je bila samo diskretno snižena. Zabilježen je oporavak, a biopsija bubrega je učinjena mjesec dana nakon početka bolesti zbog inicijalno izražene trombocitopenije te solitarnog bubrega (što je vjerojatan uzrok nađene perihilarne FSGS zbog hiperfiltracijskog oštećenja), no nije bilo znakova TMA iako je uzorak bio adekvatan (na svjetlosnoj mikroskopiji 20 glomerula). Serološki, završni kompleks bio je pojačano aktivan, ali nije bilo znakova povećane potrošnje komplementa kao niti disregulacije. Ipak, s obzirom na izraženu kliničku sliku i dob, učinjena je i genska obrada kojom su nađena dva rizična halo-tipa, bio je heterizigot za MCPggaac i H3. U ovom slučaju, s obzirom na simptome prehlade prije početka bolesti vjerojatni je okidač za bolest bila (virusna) infekcija. Nakon pola godine praćenja bubrežna funkcija je bila na stadiju G2A3 te je nastavljena nefroprotektivna terapija.

Sedmi je pacijent imao jasnu MAHA, trombocitopeniju i ABO. Liječen je TIP-om, glukokortikoidima, a potom zbog rezistentne bolesti i rituksimabom (predterapijski bubrežni parametri nisu dostupni). Biopsija bubrega je učinjena tek nakon mjesec dana po premještanju iz druge ustanove u našu ustanovu. Nije bilo patohistoloških znakova TMA, no s obzirom na izraženu kliničku sliku učinjena je serološka analiza sustava komplementa koja je ukazala na pozitivan anti-FH, dakle disregulaciju i to unatoč provedenoj terapiji. Naknadno je učinjena genska analiza koja je ukazala na varijante koje mogu predisponirati za aHUS. Radilo bi se o stečenom obliku aHUS-a s protutijelima na FH kao glavnom patofiziološkom mehanizmu. S obzirom na navedeno, kroz idućih pet godina dobivao je glukokortikoidnu terapiju, većinu vremena kasnije samo 8 pa 4 mg metilprednizolona. Potom je ista prekinuta te dvije godine nakon toga nije bilo laboratorijskih znakova povrata bolesti, a bubrežna funkcija je bila u stadiju G1A2.

Osmi pacijent je u razmaku od 13 godina u dva navrata hospitaliziran pod kliničkom slikom aHUS-a (u međuvremenu se nije kontrolirao). Oba puta je učinjena biopsija bubrega, prvi put je opisana TMA duljeg trajanja (kreatinin je tada iznosio 280 $\mu\text{mol/L}$, n. 64 – 104, uz subnephrosku proteinuriju), a drugi put znakovi kronične TMA (kreatinin 342 $\mu\text{mol/L}$, n. 64 – 104, uz nephrosku proteinuriju). U tom praktički prvom relapsu krv je slana na analizu, no nakon TIP-a i glukokortikoidne terapije, pa nije bilo disregulacije sustava komplementa. No, genska analiza je otkrila multiple rizične varijante za primarni aHUS. Najistaknutija je pak patogena homozigotna mutacija u CD46 (c.286+2T>G) koja dovodi do sinteze nefunkcionalnog MCP-a. Dodatno nađena mutacija za FI označena je kao VUS, a tu su i rizični haplotipovi MCPggaac i H3, ali i jedan protektivni polimorfizam za FH. Pacijent je kroz godinu dana dobivao glukokortikoidnu terapiju, potom je ista ukinuta, a godinu i pol nakon ukidanja te terapije nije bilo laboratorijskih znakova povrata bolesti, kreatinin je bio uredan uz 24-satnu proteinuriju manju od 0,5 g.

Deveta pacijentica se prezentirala s izraženom kliničkom slikom MAHA, trombocitopenije i akutizacijom KBB-a. Provođene su hemodijalize te velik broj TIP-a uz glukokortikoide, a na kraju i pulsevi rituksimaba. Kod nje je od ranije bila poznata IgA-nefropatija i KBB te arterijska hipertenzija. Biopsija bubrega učinjena je tri mjeseca nakon kliničke manifestacije bolesti, tj. nakon što je došla na kontrolu u našu ustanovu iz druge ustanove, a u uzorku je nađena IgA-nefropatija uz TMA te kronične promjene bubrežnog parenhima. Tada je poslana i krv za serološku analizu sustava komplementa te je nađena pojačana aktivacija i disregulacija – nizak FB i to unatoč primjeni više TIP-a. S obzirom na sve navedeno učinjena je i genska analiza kojom su otkrivene dvije rizične heterozigotne mutacije za FI i FHR5 uz jedan rizičan halo-tip MCPggaac, a i ovdje je otkriven jedan protektivni polimorfizam za FH. Navedeno ukazuje na primarni aHUS. Pacijentica se nastavila dijalizirati i liječiti u drugom centru, gdje je potom izvršena i transplantacija bubrega.

Deseta pacijentica je mlada žena (28 godina) koja je u djetinjstvu imala dvije epizode koje su klinički odgovarale aHUS-u. Po dolasku u našu ustanovu ponovno se prezentirala kliničkom slikom aHUS-a (kreatinin je iznosio 177 $\mu\text{mol/L}$, n. 49 – 90, uz nephrosku proteinuriju) koji je očito bio potenciran infekcijom SARS-CoV-2. Do dolaska rezultata testa na ADAMTS13 čija vrijednost nije bila patološka, liječena je TIP-om te glukokortikoidima. Učinjenom biopsijom bubrega nakon tri tjedna od početka bolesti (zbog ograničenja u pandemiji COVID-19) nađena je aktivna TMA. Serološka analiza sustava komplementa nije bila upečat-

ljiva. Učinjenom genskom analizom nađena je ista patogena homozigotna mutacija u *CD46* (c.286+2T>G) kao i kod osmog pacijenta, koja dovodi do sinteze nefunkcionalnog MCP. Nađena je i monoalelna mutacija za *FB* (c. 199T>C) klasificirana kao VUS za koju svi *in silico* alati predviđaju značajan učinak na strukturu *FB*. Stoga se ovdje radilo o primarnom aHUS-u. U daljnjem tijeku bubrežna funkcija se nešto sporije oporavljala pa je primijenjen i ravulizumab kroz pola godine. Nakon dvije godine od prezentacije bolesti kreatinin je uredan uz umjerenu albuminuriju. S obzirom na treću trudnoću (sve su protekle bez laboratorijskih znakova aktivnosti bolesti) nije mogla uzimati nefroprotektivne lijekove do zadnje kontrole.

Rasprava

U odnosu na raniju striktniju podjelu na primarni aHUS te sekundarne oblike TMA (sekundarni HUS), genskom analizom sustava komplementa utvrđeno je da bi mutacije (kao i polimorfizmi) mogli biti bar dijelom odgovorni za razvoj bolesti u oba slučaja.³ Bitno je napomenuti da se genski poremećaji ne otkriju uvijek niti u primarnom aHUS-u, ali nedostatak drugog uzroka bolesti i klinička slika svrstavaju ih u tu skupinu. Također, neće svi nosioci rizičnih pa čak niti patoloških varijanti gena za pojedine komponente sustava komplementa razviti aHUS, niti je prisutnost patogene varijante automatski odgovorna za razvoj bolesti.⁹ Ovdje treba napomenuti da je i u slučajevima primarnog aHUS-a nerijetko potreban neki okidač za razvoj bolesti, najčešće infekcija ili trudnoća.¹⁰ U odnosu na mutacije u užem smislu, niži stupanj uzročne veze za razvoj HUS-a imaju rizični haplotipovi i pojedinačni polimorfizmi. Oni mogu pridonijeti tomu da se bolest razvije, ali ju u pravilu ne mogu sami generirati.¹¹ Cijela je situacija u pacijenata odrasle dobi složenija s obzirom na to da se prva prezentacija bolesti koja je genski uvjetovana uglavnom očekuje u dječjoj dobi. Naravno, moguće su i ranije neprepoznate manifestacije bolesti.² Prva tri pacijenta (u tablici 1 pod brojevima 1, 2 i 3) dijele anamnezu hipertenzivne krize i KBB-a te im je serološka analiza sustava komplementa kao i ona genska neupadljiva, pa bi se moglo sa sigurnošću reći da je riječ o sekundarnom obliku bolesti. Četvrti pacijent također dijeli istu anamnezu i nema jasne kliničke znakove TMA, no kod njega je prisutna granična disregulacija sustava komplementa. Kod svih ovih pacijenata nalaz TMA na biopsiji bubrega u pravilu je bio neočekivan. Razlog zašto je kod njih učinjena genska analiza jest predtransplantacijska obrada jer je poznato da se nakon transplantacije bolest može aktivirati.¹² Kao što je i ranije spomenuto, u našoj skupini pacijenata s TMA postoji veći broj pacijenata od ovdje prikazanih, a najčešće komorbidno stanje bila je neregulirana arterijska hipertenzija. Serološka analiza sustava

komplementa učinjena je u jednom dijelu tih pacijenata, no na temelju svih nalaza zaključeno je da je riječ o sekundarnom obliku bolesti, a budući da nije bilo izražene bubrežne bolesti nije se učinilo daljnje gensko testiranje. Kod četvrtog i u još dva pacijenta na biopsiji je nađena IgA-nefropatija koja je inače najčešći glomerulonefritis praćen TMA. Moguća podloga je poremećaj u sustavu komplementa u obje bolesti, iako dosadašnji rezultati genskog testiranja to nisu potvrdili. Naime, disregulacija alternativnog i lektinskog puta aktivacije komplementa ima važnu ulogu u samoj IgA-nefropatiji pa je moguće i preklapanje patofizioloških mehanizama, odnosno moguće je da u dijela pacijenata s IgA-nefropatijom bez TMA zapravo postoji disregulacija komplementa ili genska podloga.¹³ Iduća tri pacijenta (u tablici 1 pod brojevima 5, 6 i 7) čine skupinu koja je imala izraženu MAHA, trombocitopeniju i ABO, a da je bolest klinički bila ozbiljnija govori i intenzivna terapija, hemodijaliza u prvog te TIP i glukokortikoidna terapija u druga dva pacijenta. Bitno je ovdje napomenuti i da je vremenski raspon u godinama među incidencijama razlog za primjenu ili izostanak primjene određenih terapija s obzirom na tadašnje smjernice ili mogućnost specifičnog liječenja. Zanimljivo je da u druga dva pacijenta nisu nađeni znakovi TMA na biopsiji bubrega. Ovdje je najbitniji podatak da je biopsija učinjena otprilike jedan mjesec nakon prezentacije bolesti, u prvoga pacijenta zbog rezistentne trombocitopenije i solitarnog bubrega, a u drugog zbog lošega općeg stanja te smještaja u drugoj ustanovi. S obzirom na to da je riječ o akutnoj prezentaciji bolesti i da je provedeno liječenje, nalaz biopsije bubrega nije toliko neočekivan. To je razlog zbog kojega se u naslovu ovog rada opisuju „elementi trombotične mikroangiopatije“ jer u ova dva slučaja nema patohistološke potvrde TMA, iako klinička postoji. Ipak, u devete i desete pacijentice biopsija je također kasnije učinjena pa je ipak nađena TMA, no one su imale još ozbiljniju, odnosno jasniju prezentaciju bolesti. U šestog pacijenta (virusna) infekcija vjerojatno je bila okidač za početak bolesti te se on približio dijagnozi primarnog aHUS-a. U njega i petog pacijenta nađena je serološki pojačana aktivnost završnog kompleksa sustava komplementa, što govori za aktivnu bolest. U sedmog pacijenta jasno je prisutna disregulacija sustava komplementa zbog visoke razine protutijela na FH. Protutijelo je bilo prisutno i nakon inicijalne terapije te je zbog izostanka terapijskog odgovora primijenjen i rituksimab. Može se zaključiti da su protutijela sudjelovala u patofiziološkom procesu, iako genskom analizom nisu nađene varijacije koje su obično povezane s ovim stanjem (vezane za FH povezane proteine 1 i 3).¹⁴ U ovih nekoliko pacijenata nađene su bar po dvije genske varijante, od kojih su najistaknutiji rizični haplotipovi MCPggaac za MCP te H3 za FH, dakle postoji genski rizik, ali su potrebni dodatni čimbenici za

razvoj bolesti. Stoga se ne može govoriti sa sigurnošću o primarnom aHUS-u.¹¹ U prvih sedmero pacijenata genske varijante su mahom vezane za FH i MCP, koje generalno i jesu najčešće.¹⁵ Kod zadnja tri pacijenta (u tablici 1 pod brojevima 8, 9 i 10) utvrđene su mutacije u užem smislu gena za sustav komplementa i po tome se oni razlikuju od ostalih pacijenata. U svih troje bila je prisutna MAHA i ABO, a zanimljivo je da je samo u jedne pacijentice serološki nađena disregulacija komplementa – nizak FB (nakon više ciklusa TIP-a). U osmog pacijenta krv je također uzorkovana nakon TIP-a pa je nejasno je li i kod njega bilo disregulacije sustava komplementa. Zbog težine bolesti u svih troje je provedena TIP uz glukokortikoidnu terapiju, a u jedne pacijentice provedena je i hemodijaliza te naknadno terapija rituksimabom. Osmi pacijent i deseta pacijentica su homozigoti za patogenu varijantu za MCP (u CD46). Dodatno su oboje homozigoti za rizičan haplotip MCPggaac. Preostala pacijentica je za navedenu varijaciju heterozigot, a kod nje su nađene potencijalno patogene mutacije za koje je heterozigot, ali bi se s obzirom na težinu kliničke slike moglo zaključiti da jesu patološke. Stoga, u posljednja tri pacijenta kombinacija izražene kliničke slike, dokaz TMA na biopsiji bubrega te prisutnost (potencijalno) patogenih mutacija, a ne samo (rizičnih) varijanti govori da se vjerojatno radi o primarnom aHUS-u. Najjasnije je to u zadnje mlade pacijentice, kojoj je prema anamnezi ovo bio drugi relaps bolesti koji je sada bio povezan s infekcijom SARS-CoV-2 kao okidačem. Druge dvije prezentacije bolesti bile su u djetinjstvu kada još nije bilo dostupne specifične dijagnostike. Ona je jedina naša pacijentica koja je za sada liječena inhibitorom komplementa, ravulizumabom te je dobro odgovorila na terapiju. Zanimljivo je postojanje protektivnog polimorfizma za FH u druga dva pacijenta iz ove skupine. S obzirom na to da je prisutnost mutacije ipak genetski „jača“ vjerojatnije je da nema prevelik utjecaj, ali nije zanemarivo.¹⁶ Druga je zanimljivost podatak da su obje pacijentice rodom iz Hercegovine koja je moguće najčešća regija iz koje dolaze pacijenti s mutacijama za aHUS, a koji se liječe u Hrvatskoj (osobno opažanje nekih autora). Preostali je pacijent rodom također iz Bosne i Hercegovine, ali se ne znaju podatci o podrijetlu njegovih roditelja. Genetska istraživanja pokazuju da je bitnija količina rizičnih varijanti negoli sama njihova prisutnost.¹⁵ U većine pacijenata (u svih osim prvog, sedmog i osmog) nađeni su i polimorfizmi koji su rizični za razvoj bolesti gustih depozita. Ti polimorfizmi nisu navedeni u tablici 1 jer je riječ o predispoziciji za drugu bolest. Međutim, budući da se također radi o promjenama u AP sustavu komplementa, svaki takav poremećaj teoretski može pripomoći i razvoju aHUS-a.¹⁷ Potrebno je još jednom naglasiti da i serološka i genska negativna analiza mogu postojati u osobe s primarnim aHUS-om. Definitivna dijagnoza

se tada postavlja na temelju izražene kliničke slike. Dosadašnjim istraživanjima nisu još ni nađene sve varijante i mogućnosti. U čak 60% pacijenata s primarnim aHUS-om razina svih proteina sustava komplementa može biti uredna.¹⁸ Jedan od znakova koji upućuje da bolest vjerojatno nije komplementom posredovana jest izostanak zahvaćanja glomerula (prije svega izostanak tromba u njima) u patohistološkoj analizi tkiva bubrega pacijenata s TMA; ovo se posebice odnosi na slučajeve pacijenata s hipertenzivnom krizom.¹⁹ Neka istraživanja govore o velikom broju nađenih genskih varijanti sustava komplementa u stanjima kao što su hipertenzivna kriza i teža bubrežna bolest (čak u do 50% pacijenata), što može utjecati i na terapiju, primjerice inhibitorima komplementa.²⁰ S druge strane, navodi se da u pacijenata s aHUS-om, s genskim varijantama ili bez njih, sama hipertenzivna kriza ne utječe na razlike u težini bolesti i ishodima.²¹ Sve ovo govori da je u analizi patofiziologije i genske podloge ovih bolesti nužan genetičar, što se i preporučuje.⁹ Budući da je ovo presječan pregled i da se dio pacijenata više ne kontrolira kod nas, nisu se mogli pratiti svi ishodi. Ipak, može se reći da je i uz teže kliničke slike došlo do oporavka krvne slike, a kod dijela pacijenata i bubrežne funkcije (ako od ranije nije postojala KBB). Također, u težim oblicima bolesti naših pacijenata najprominentnije su bile mutacije za MCP koje kratkoročno imaju bolju prognozu od drugih mutacija. Prognoza aHUS-a dosta se promijenila uvođenjem u terapiju inhibitora komplementa i drugih naprednih tehnika liječenja.²²

Zaključci

Patofiziologija TMA, odnosno HUS-a izrazito je kompleksna i pogled na nju se mijenja napretkom u istraživanju sustava komplementa. Nekoliko je činjenica bitno naglasiti. U svakog pacijenta koji se prezentira s MAHA, trombocitopenijom i bubrežnim oštećenjem, ako nema kontraindikacija, uputno je napraviti biopsiju bubrega, jer je TMA prije svega patohistološka dijagnoza. Prije primjene specifične terapije, prije svega TIP-a, potrebno je uzorkovanje krvi za analizu ADAMTS13 i sastavnica komplementa te ju je potrebno, ako se ne šalje odmah, pohraniti za daljnju potencijalnu analizu. Serološka analiza sustava komplementa danas je standard u slučajevima klinički akutne ili teže bolesti. Ipak, kako je viđeno iz ovog prikaza, ta analiza često ne daje značajna odstupanja od normale, iako bolest može biti i teža. Ako su klinički te laboratorijski i/ili patohistološki nalazi izraženi, tj. sugestivni za primarni aHUS ili ako nema jasnoga sekundarnog uzroka TMA, odnosno ako on postoji, ali je potrebno odrediti potencijalne genske faktore (npr. u predtransplantacijskoj obradi, pri ponavljanju bolesti i slično) potrebno je zatražiti gensko testiranje. U analizi svih

rezultata ključna je suradnja kliničara (najčešće nefrologa), nefropatologa i genetičara koji proučava sustav komplementa. U liječenju se ipak, do dolaska rezultata testiranja, prije svega treba voditi kliničkom slikom, neovisno o mogućoj etiologiji.

Zahvale

Zahvala profesoru Zoltánu Prohászki, voditelju laboratorija na Sveučilištu Semmelweis u Budimpešti gdje se vrši serološka i genska analiza sustava komplementa, za izvrsnu suradnju i podršku.

INFORMACIJE O SUKOBU INTERESA

Autori nisu deklarirali sukob interesa relevantan za ovaj rad.

INFORMACIJA O FINANCIRANJU

Za ovaj članak nisu primljena financijska sredstva.

DOPRINOS AUTORA

KONCEPCIJA ILI NACRT RADA: DK, IH

PRIKUPLJANJE, ANALIZA I INTERPRETACIJA PODATAKA: DK, NZ, MT, IH, PŠ, DGLJ, KG

PISANJE PRVE VERZIJE RADA: DK

KRITIČKA REVIZIJA: DK, NZ, MT, IH, PŠ, DGLJ, KG

LITERATURA

- Palma LMP, Sridharan M, Sethi S. Complement in Secondary Thrombotic Microangiopathy. *Kidney Int Rep.* 2021;6(1):11-23.
- Noris M, Ruggenti PL, Remuzzi G. Thrombotic Microangiopathies, Including Hemolytic Uremic Syndrome. U: Johnson RJ, Floege J, Tonelli M, ur. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 7. izd. London: Elsevier; 2023, str. 350-62.
- Timmermans SAMEG, van Paassen P. The Syndromes of Thrombotic Microangiopathy: A Critical Appraisal on Complement Dysregulation. *J Clin Med.* 2021;10(14):3034.
- Lemaire M, Frémeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M i sur. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet.* 2013;45(5):531-6.
- Osborne AJ, Breno M, Borsa NG, Bu F, Frémeaux-Bacchi V, Gale DP i sur. Statistical Validation of Rare Complement Variants Provides Insights into the Molecular Basis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome and C3 Glomerulopathy. *J Immunol.* 2018;200(7):2464-78.
- Fakhouri F, Zuber J, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet.* 2017;390(10095):681-96.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J i sur. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.
- Selby NM, Taal MW. What every clinician needs to know about chronic kidney disease: Detection, classification and epidemiology. *Diabetes Obes Metab.* 2024. Epub ahead of print.
- Fakhouri F, Frémeaux-Bacchi V. Thrombotic microangiopathy in aHUS and beyond: clinical clues from complement genetics. *Nat Rev Nephrol.* 2021;17(8):543-53.
- Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S i sur. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(10):1844-59.
- Arjona E, Huerta A, Goicoechea de Jorge E, Rodríguez de Córdoba S. Familial risk of developing atypical hemolytic-uremic syndrome. *Blood.* 2020;136(13):1558-61.
- Reynolds JC, Agodoa LY, Yuan CM, Abbott KC. Thrombotic microangiopathy after renal transplantation in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(5):1058-68.
- El Karoui K, Hill GS, Karras A, Jacquot C, Moulouguet L, Kourilsky O i sur. A clinicopathologic study of thrombotic microangiopathy in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(1):137-48.
- Durey MA, Sinha A, Togarsimalemath SK, Bagga A. Anti-complement-factor H-associated glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(9):563-78.
- Haydock L, Garneau AP, Tremblay L, Yen HY, Gao H, Harrison R i sur. Genetic abnormalities in biopsy-proven, adult-onset hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy. *J Mol Med (Berl).* 2022;100(2):269-84.
- Feitz WJC, van de Kar NCAJ, Orth-Höller D, van den Heuvel LPJW, Licht C. The genetics of atypical hemolytic uremic syndrome. *Med Genet.* 2018;30(4):400-9.
- Bu F, Zhang Y, Wang K, Borsa NG, Jones MB, Taylor AO i sur. Genetic Analysis of 400 Patients Refines Understanding and Implicates a New Gene in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29(12):2809-19.
- Cataland SR, Holers VM, Geyer S, Yang S, Wu HM. Biomarkers of terminal complement activation confirm the diagnosis of aHUS and differentiate aHUS from TTP. *Blood.* 2014;123(24):3733-8.
- Larsen CP, Wilson JD, Best-Rocha A, Beggs ML, Hennigar RA. Genetic testing of complement and coagulation pathways in patients with severe hypertension and renal microangiopathy. *Mod Pathol.* 2018;31(3):488-94.
- El Karoui K, Boudhabhay I, Petitprez F, Vieira-Martins P, Fakhouri F, Zuber J i sur. Impact of hypertensive emergency and rare complement variants on the presentation and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome. *Haematologica.* 2019;104(12):2501-11.
- Cavero T, Arjona E, Soto K, Caravaca-Fontán F, Rabasco C, Bravo L i sur. Severe and malignant hypertension are common in primary atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* 2019;96(4):995-1004.
- Syed YY. Ravulizumab: A Review in Atypical Haemolytic Uraemic Syndrome. *Drugs.* 2021;81(5):587-94.