

Síndrome hemolítico urémico atípico en lactantes con mutaciones genéticas: Reporte de 3 casos

Atypical hemolytic-uremic-syndrome in infants with genetic mutations. Report of three cases

Reyner Loza ^{1,2,a} , Fernando Arias ^{2,b} , Angelica Ynguil ^{2,b} , Nathalie Rodríguez ^{2,b} , Víctor Neyra ^{3,4,c} 

RESUMEN

El síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) es una entidad clínica considerada rara; sin embargo, es la causa más común de insuficiencia renal aguda en niños. Esta enfermedad se acompaña de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, retención nitrogenada y afectación de la función renal, por lo que representa alta morbilidad y compromiso sistémico. Se reportan tres casos de SHUa en lactantes que presentaron pródromos respiratorios, diarrea, anemia hemolítica y trombocitopenia, con pérdida de función renal. Estos casos mostraron que dicha patología está asociada a mutaciones en los genes: CFH (Complemento Factor H), MCP (Membrana Cofactor Proteín), CFHR1 (Complemento Factor H-Related Proteín1), CFHR5 (Complemento factor H-Related Protein 5) y el gen C3 (Complemento component 3). Los genes CFH y MCP se encontraron afectados en dos de los casos, mientras que el tercer caso mostró una mutación nueva no reportada en el gen C3. Estos resultados evidencian que estas mutaciones están presentes en el Perú, por lo que se debe investigar y establecer medidas de prevención para reducir el alto riesgo de morbilidad y mortalidad que presentan los niños portadores SHUa.

PALABRA CLAVE: Síndrome hemolítico-urémico, lactante, mutación.

SUMMARY

The atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a rare clinical entity, but it is the most common cause of acute kidney failure in kids. The disease is characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure, and it is associated with high morbidity and systemic involvement. We report here three cases of aHUS in infants presenting with prodromal respiratory symptoms, diarrhea, hemolytic anemia, thrombocytopenia

-
- 1 Departamento de Clínicas Médicas, Facultad Medicina Alberto Hurtado. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.
 - 2 Unidad de Nefrología Pediátrica, Servicios de especialidades, Departamento de Pediatría. Hospital Cayetano Heredia. Lima, Perú.
 - 3 Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular, Unidad de Trasplante Renal. Hospital Cayetano Heredia. Lima, Perú.
 - 4 Carrera de Ingeniería Biomédica, Facultad de Ciencias, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.
 - a Profesor Asociado; Nefrólogo Pediatra.
 - b Nefrólogo Pediatra.
 - c Biólogo Molecular; Magister en Biología Molecular, Doctor en Bioquímica y Biología Molecular; Profesor Horario.

REPORTE DE CASO / CASE REPORT

and acute renal failure. aHUS cases depict mutations in several genes: membrane cofactor protein (MCP) and complement factor H related proteins 1 and 5 (CFH, RP1 and PR5). Two our patients showed mutations in the genes CFH and MCP, and one presented a new non-previously reported mutation in the gen C3. Our results emphasize the existence of these aHUS mutations and underscore the need to study them to prevent morbidity and mortality.

KEYWORDS: Hemolytic uremic syndrome, mutation, infant.

INTRODUCCIÓN

El síndrome hemolítico urémico (SHU) es una entidad clínica caracterizada por trombocitopenia, anemia hemolítica no inmune e insuficiencia renal. Afecta a los riñones, el cerebro, el corazón, los pulmones, el tracto gastrointestinal, el páncreas y la piel⁽¹⁾. Esta patología renal muestra microangiopatía trombótica (MAT) con lesión en las células endoteliales que conduce a la oclusión de arteriolas y capilares.

Tradicionalmente, el SHU se clasificaba en 2 formas: SHU típico, que se presenta con mayor frecuencia en niños y es causado por bacterias productoras de toxina Shiga, y SHU atípico (SHUa).

El síndrome urémico hemolítico atípico (SHUa) surgió durante la última década como una enfermedad rara ocasionada principalmente por la desregulación del complemento producto de la activación de la vía alternativa del complemento, que es dirigida de forma aberrante contra las células endoteliales y las células sanguíneas. Se asocia con mutaciones en los genes del complemento, de los cuales el gen CFH comúnmente conocido como factor H, representa el 50-60% de los pacientes afectados y con peor pronóstico, la mayoría de estos pacientes desarrolla enfermedad renal en etapa terminal^(2,3,4).

El desarrollo de nuevas tecnologías en biología molecular, como el secuenciamiento masivo del ADN, NGS (Nueva Generación de Secuenciamiento) y la genética molecular, permiten el estudio de una batería de genes relacionados con la enfermedad. Dichas mutaciones son catalogadas en el banco de SNP (Single Nucleotide Polymorphism), de acuerdo con las características clínicas del paciente, dando al clínico información valiosa para el desarrollo de opciones de tratamiento novedosas y racionales dirigidas a controlar la activación exacerbada del complemento, como, por ejemplo, el tratamiento en pacientes SHUa con Eculizumab (anticuerpo monoclonal anti-C5)⁽⁵⁾.

Por esta razón se reporta por primera vez tres casos con SHUa en lactantes, confirmados con estudio genético, en Perú.

PRESENTACIÓN DE LOS CASOS

Caso 1

Niña de 11 meses, procedente de Lima, natural de Abancay, Apurímac. Acudió a la consulta con historia de tos, fiebre, disminución de apetito, vómitos, deposiciones líquidas con moco y sangre y palidez de la piel. Los exámenes auxiliares mostraron anemia hemolítica, retención nitrogenada, trombocitopenia e hipocomplementemia. Al no mejorar la función renal, la niña ingresó al programa de diálisis peritoneal crónica ambulatoria (DPCA), en el que permanece hasta la actualidad, sin necesidad de plasmaféresis y sin presentar anemia hemolítica persistente.

Su madre de 29 años, quien no presenta historia de consanguineidad con el padre, tiene diagnóstico de hipotiroidismo y recibe terapia con Levotiroxina. La hermana mayor de la paciente, a los tres meses de vida presentó un cuadro similar requiriendo terapia de diálisis peritoneal; falleció posteriormente debido a un cuadro de neumonía.

Por las características de la evolución clínica se envió una muestra de ADN, para estudio genético al Laboratorio de Inmunología y Enfermedades Genéticas Raras del Mario Negri Institute for Pharmacological Research, Milan, Italia. El reporte genético mostró cuatro mutaciones en el gen CFH, mutaciones comprendidas en los dominios SCR-9, -16, -20, así como en la secuencia promotora del gen CFH. También se encontró una mutación en homocigosis en el gen MCP a nivel del dominio 3' UTR (Región 3 de la región no traducida del gen) (tabla 1).

Caso 2

Niño de 11 meses de edad, procedente de Bambamarca, Cajamarca. Madre de 21 años y padre de 29 años con historia de consanguineidad. El paciente acudió a la consulta al sexto día de estar enfermo; presento deposiciones líquidas de características disintéricas alrededor de 5 veces al día, acompañado de alza térmica, rinorrea, irritabilidad, hiporexia y

REPORTE DE CASO / CASE REPORT

Tabla 1. Resumen de mutaciones en pacientes con SHUa.

Paciente	CFH Mutación		MCP mutación		CFHR1 mutación		CFHR5 mutación		C3 mutación	
	Mutación	Dominio	Mutación	Dominio	Mutación	Dominio	Mutación	Dominio	Mutación	Dominio
P1	p. G549A	SCR-9	c.*897T>C	3'UTR						
	p. R1215Q	SCR-20								
	p. E93gD	SCR-16								
	c.-332 C<T	Promotor								
P2	p. W858R	SCR-14	c.*897T>C	3'UTR	p.H157Y	Exón 4				
	p. T1184R	SCR-20			p. L159V	Exón 4	c.1148-2 A>G	Splicing		
					p. E175Q	Exón 4				
P3									p. S181P	Exón 5

Genes estudiados: CFH “Complement factor H”; MCP “Membrane Cofactor Protein”; CFHR1 “Complement factor H-related protein 1”; CFHR5 “Complement factor H-related protein 5”; C3 “Complement component 3”.

Dominios: SCR “Short consensus repeats”; 3'UTR “3 Untranslated Region”.

Mutaciones resaltadas en negrita representan nuevas mutaciones, no descritas en la literatura científica para pacientes SHUa.

somnolencia. Además, disminución de flujo urinario e hinchazón de los pies y los párpados y diaforesis.

Los exámenes mostraron anemia hemolítica, plaquetopenia y retención nitrogenada, diagnosticándose SHUa y se inició tratamiento de diálisis peritoneal de urgencia, por sobrecarga hídrica. Posteriormente, fue referido al Hospital Cayetano Heredia de Lima, donde se evidenció crisis de anemia hemolítica recurrente requiriendo soporte transfusional frecuente, recibiendo 6 sesiones de plasmaféresis. A pesar ello, el compromiso renal no mejoró, presentando episodios de hemólisis, por lo cual se inició diálisis peritoneal crónica. Posteriormente recibió Eculizimab (anticuerpo monoclonal anti-C5) como uso compasivo mostrando mejoría de la función renal saliendo del programa de diálisis.

Los exámenes auxiliares al ingreso fueron: Hemoglobina 6,87gr/dl, hematocrito 20%, plaquetas 145 000 x10³/μL, reticulocitos 7,7%, y presencia de esquistocitos en la lámina periférica; urea 131 mg/dl, creatinina 2,01 mg/dl, sodio 138 mEq/l, potasio 3,13 mEq/l, albumina 2,4 g/l, deshidrogenasa láctica 4 558 UI, Complemento C₃: 63 mg/dl (90-180), C₄: 17 mg/dl (10-40), Actividad de ADAMT-13: 71%.

El estudio genético realizado en el *Mario Negri Institute for Pharmacological Research*, de Milán, Italia mostró dos mutaciones en heterocigosis en el gen CFH, comprendidas en los dominios SCR-14 y -20; una mutación en homocigosis en el gen MCP a nivel del dominio 3 UTR (Región 3' de la región no traducida del gen); tres mutaciones en heterocigosis

en el gen CFHR1 todas en la región del Exón 4, y una nueva mutación en heterocigosis no reportada en el gen CFHR5 a nivel del sitio de Splicing (punto de reconocimiento para la remoción del intrón y empalme del exón) (tabla 1).

Caso 3

Niña de un año de edad, procedente de Trujillo, quien acudió a consulta presentando palidez progresiva y decaimiento. Se le diagnosticó anemia hemolítica, la cual fue tratada con múltiples transfusiones. Durante su evaluación presentó trombocitopenia, hipocomplementemia, y enfermedad renal aguda, por lo que se inició terapia de diálisis peritoneal aguda, además de 10 sesiones de plasmaféresis.

Dos meses después se inició tratamiento con Eculizimab (anticuerpo monoclonal anti-C5) como uso compasivo. Al recibir la tercera dosis se evidenció mejoría de la función renal por lo que se le retiró el catéter.

El estudio genético realizado en el *Mario Negri Institute for Pharmacological Research* de Milán, Italia, encontró una nueva mutación en heterocigosis no reportada en pacientes SHUa, en el gen C3 (Complement component 3), con características patogénica, p.S181P (tabla 1).

En la actualidad, la paciente presenta función renal normal, hemoglobina y plaquetas en límites normales y no evidencia hasta el momento un nuevo episodio de hemólisis.

REPORTE DE CASO / CASE REPORT

Tabla 2. Análisis “in silico” de las mutaciones encontradas en pacientes SHUa, mediante PolyPhen-2.

Paciente	CFH Mutación		MCP mutación		CFHR1 mutación		CFHR5 mutación		C3 mutación	
	Mutación	Score	Mutación	Score	Mutación	Score	Mutación	Score	Mutación	Score
P1	p. G549A	0,39	c.*897T>C	---						
	P-R1215Q	0,73								
	p. E93gD	0,20								
P2	c.-332 C<T									
	p. W858R	1,00	c.*897T>C	---	p.H157Y	0,15				
	p. T1184R	0,00			p. L159V	0,00	c.1148- 2A>G	---		
P3					p. E175Q	0,06				
									p. S181P	0,83

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) herramienta que predice el posible impacto de una sustitución de aminoácidos en la estructura y función de una proteína humana.

HumVar; Score resaltado en negrita representa mutación “probablemente dañino” con implicancias patológicas.

Los resultados vacíos de HumVar; Score no aplican, mutaciones se encuentran en zonas no codificante para proteína.

DISCUSIÓN

El síndrome urémico hemolítico atípico (SHUa) es considerado una enfermedad rara con efectos sistémicos en varios órganos debido a una mutación o mutaciones acumulativas en genes que afectan la regulación del complemento, tiene alta morbilidad, mortalidad y terapia de alto costo en niños que irremediamente terminan perdiendo la función renal.

El SHUa tiene una incidencia anual de 0,5-2 casos por millón de habitantes, sus efectos antes de la terapia con Eculizimab eran catastróficas: 5-25% de mortalidad y 50% desarrollan enfermedad renal crónica terminal (ERCt) ^(7,8).

Hacemos este reporte porque en dos de nuestros casos presentados el síntoma principal fue diarrea con moco y sangre, acompañado de manifestaciones respiratorias que se asemejaban a cuadros virales; sin embargo, las características más frecuentes que se describen son: infección del tracto respiratorio en 23%, fiebre 46% y vómitos hasta en 81%, estas descripciones manifiestan la coexistencia de formas atípicas y típicas ⁽⁹⁾.

Los tres pacientes evolucionaron a terapia de reemplazo renal y en los exámenes de laboratorio la hipocomplementemia era un patrón común

Las formas atípicas comparten características clínicas con las típicas, y que detrás de un niño con forma típica puede haber una forma atípica, sobre todo en los que presentan compromisos neurológicos, cardiológicas y oftalmológicos.

Las manifestaciones extrarrenales pueden presentarse en la fase aguda del SHUa, pero también pueden ocurrir como secuelas a largo plazo de la activación del complemento. El cuidado de la afectación extrarrenal es fundamental, ya que la evaluación y el tratamiento oportuno pueden reducir el riesgo de alta morbilidad y mortalidad asociadas.

Las mutaciones descritas con mayor frecuencia están relacionadas con los genes; Factor del complemento H (CFH), Factor del complemento H relacionadas (CFHR), Proteína Cofactor de Membrana (MCP), Complemento 3 (C3), Factor del complemento I (CFI), Factor del complemento B (CFB), Trombomodulina (THBD), Anticuerpos contra CFH y en el Perú estaría ya descritas algunos de estos tipos de afectaciones genéticas ^(10,11).

Los tres casos presentados en este reporte confirman la etiología genética, con mutaciones encontradas en los genes CFH, CFHR1, CFHR5, MCP y C3, dando una información clara de su existencia en la población peruana. Uno de los genes que mostró mayor número de mutaciones puntuales fue el gen CFH (factor de complemento H), que juega un papel importante

REPORTE DE CASO / CASE REPORT

en la regulación de la vía alterna del complemento, previniendo la amplificación y activación del complemento C3, mutaciones en el gen CFH, están relacionados con enfermedades a los riñones causadas por un sistema de complemento hiperactivo⁽¹²⁾.

El análisis genético de los pacientes 1 y 2 mostró varias mutaciones en el gen CFH (tabla 1); las mutaciones puntuales, pueden generar cambios en la estructura primaria de la proteína, así como en su estructura conformacional final. Para analizar el daño que estas mutaciones pueden generar en la proteína, su expresión o su estabilidad, se puede tomar como evidencia los reportes clínicos y publicaciones científicas, sin embargo, si se trata de una mutación nueva, no reportada, se puede realizar un análisis *in silico*, mediante análisis bioinformático.

Existen diversas plataformas de acceso gratuito en internet que pueden dar información acerca de la malignidad de una mutación. En este estudio se utilizó el programa PolyPhen-2, algoritmo que muestra la probabilidad de que la mutación ocasione una alteración significativa en la proteína, generando malignidad, mediante un score de 0.0-1.0, cuanto más cercano a 1, mayor probabilidad de que la mutación sea maligna para la funcionalidad de la proteína⁽¹³⁾. Todas las mutaciones encontradas en estos pacientes fueron analizadas con el programa PolyPhen-2, cuyos resultados se encuentran en la tabla 2.

Los resultados *in silico* mostraron que las mutaciones en el gen CFH, p.R1215Q del paciente 1 y p.W858R del paciente 2, presentaron un HumVar; Score de 0,73 y 1,0 respectivamente, probablemente dañinos, o patogénicos.

Las mutaciones en el gen CFH en ambos pacientes estuvieron afectando diversos dominios de la proteína, como los SCR (Short Consensus Repeats), conocidos como secuencia corta consenso, estos dominios de unión SCR presentan interacción con diferentes proteínas como: C3b, C3d, heparán sulfato, Factor I, y ácido siálico, teniendo un efecto regulador en la amplificación de la cascada del complemento.

Adicionalmente se encontró en el paciente 1, una mutación en homocigosis TT en el gen CFH; c.-332 C>T, a nivel de la secuencia promotora, afectando probablemente la expresión de este gen. Otro de los genes afectados en los pacientes 1 y 2 fue el gen MCP (Membrana Cofactor Protein), encontrándose la misma mutación en homocigosis CC en ambos

pacientes, c.*897 T>C, (rs7144), en la región 3'UTR, esta mutación está relacionada con el haplotipo de riesgo MCP GGAAC en pacientes con SHUa. Así mismo en el paciente 2 se encontró 3 mutaciones en heterocigosis en el gen CFHR1 todas en la región del Exón 4, comprendidas entre las variantes 157Y, 159V y 175Q (tabla 1), considerados alelos de riesgo CFHR1B en pacientes con SHUa^(13,14).

Finalmente, se encontró una nueva mutación en heterocigosis no reportada en el gen CFHR5, c.1148-2 A>G, a nivel del sitio de Splicing (punto de reconocimiento para la remoción del intrón y empalme del exón) afectando la estructura primaria de la proteína.

Con respecto al paciente 3, no mostró afectación con respecto a los genes CFH (Complemento factor H) y MCP (Membrana Cofactor Protein); sin embargo, en el estudio del gen C3 (Complement component 3), se encontró una mutación en heterocigosis nueva no reportada, c.541 T>C, p.S181P. En el análisis *in silico* utilizando el programa PolyPhen-2, para esta nueva variante se obtuvo un HumVar; Score de 0,83 (probablemente dañino), considerándose a esta mutación como patogénica. El estudio genético en estos pacientes muestra el descubrimiento de nuevas mutaciones, no reportadas en la literatura científica en pacientes SHUa, en los genes CFH (p.G549A), CFRH5 (c.1148-2 A>G) y C3 (p.S181P)^(15,16).

En cuanto a la terapia, dos de los tres niños tuvieron acceso al uso de Eculizumab como parte del programa de uso compasivo de Alexion Pharmaceutical con buena respuesta, incluso han recuperado la función renal y no se encuentran en programa de diálisis. Este medicamento es un “anticuerpo monoclonal humanizado que inhibe la activación del C5, bloqueando la generación de la molécula proinflamatoria C5a y la formación del complejo de ataque de membrana”⁽⁸⁾.

Eculizumab interrumpe el proceso de MAT, y se ha observado a largo plazo estabilidad hematológicas y mejoría de la función renal⁽¹⁷⁾. Este producto ha demostrado eficacia y seguridad en múltiples ensayos clínicos, previene la progresión a la etapa terminal enfermedad renal en la mayoría de los pacientes con SHUa⁽¹⁸⁾.

Por todo esto podemos afirmar que las mutaciones reportadas y nuevas, encontradas en este estudio en pacientes con síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) existen en el Perú, y se encuentra

REPORTE DE CASO / CASE REPORT

frecuentemente en lactantes menores, lo cual implicaría alta morbilidad y progresión a enfermedad renal crónica en pacientes previamente diagnosticados de SHUa. El estudio genético molecular es útil para definir pronóstico, hacer consejo genético para evitar la consanguineidad como medida preventiva para evitar la presencia de nuevos casos. Este reporte tiene limitaciones debido al número escaso de pacientes.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Contribución de autoría:

RL; FA; AI, NR, VN: Participaron en la redacción del reporteyenlaaprobacióndelaversiónfinalaserpublicada.

Correspondencia:

Reyner Loza

Correo electrónico: reyner.loza@upch.pe

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Formeck C, Swiatecka-Urban A. Extra-renal manifestations of atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2019; 34(8):1337-1348.
2. 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; 31(1):15-39.
3. Kaartinen K, Martola L, Meri S. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *Duodecim.* 2017; 133(6):539-547.
4. Dixon BP, Gruppo RA. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *Pediatr Clin North Am.* 2018; 65(3):509-525.
5. Sepúlveda RA, Tagle R, Jara A. Síndrome hemolítico urémico atípico. *Rev Med Chil.* 2018; 146(6):770-779.
6. Yoshida Y, Kato H, Ikeda Y, Nangaku M. Pathogenesis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Atheroscler Thromb.* 2019; 26(2):99-110.
7. Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS, et al. Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome causes and short-term course. *Am J Kidney Dis.* 2004; 43(6):976-82.
8. Blasco M, Rodríguez S, Campistol JM. Síndrome hemolítico urémico atípico. *Med Clin (Barc).* 2015; 145(10):438-445.
9. Siegler RL, Pavia AT, Hansen FL, Christofferson RD, Cook JB. Atypical hemolytic-uremic syndrome: a comparison with postdiarrheal disease. *J Pediatr.* 1996; 128(4):505-11.
10. Ponce J, Salinas C, Loza R. Síndrome urémico hemolítico atípico de presentación neonatal. *Rev Med Hered.* 2011; 22(1):29-33.
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; 31(1):15-39.
12. Bresin E, Rurali E, Caprioli J, et al. Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol.* 2013; 24(3):475-86.
13. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010; 7(4):248-9. doi: 10.1038/nmeth0410-248
14. Osborne AJ, Breno M, Borsa NG, et al. 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):2464-2478.
15. Caprioli J, Castelletti F, Bucchioni S, et al. Complement factor H mutations and gene polymorphisms in haemolytic uraemic syndrome: the C-257T, the A2089G and the G2881T polymorphisms are strongly associated with the disease. *Hum Mol Genet.* 2003; 12(24):3385-95.
16. Abarrategui-Garrido C, Martínez-Barricarte R, López-Trascasa M, de Córdoba SR, Sánchez-Corral P. Characterization of complement factor H-related (CFHR) proteins in plasma reveals novel genetic variations of CFHR1 associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2009; 114(19):4261-71.
17. Legendre CM, Licht C, Muus P, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 2013; 368(23):2169-81.
18. Licht C, Greenbaum LA, Muus P, et al. Efficacy, and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int.* 2015; 87(5):1061-73.

Recibido: 17/09/2021

Aceptado: 30/12/2021