

SEMMELWEIS EGYETEM
DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2773.

RÉTI MARIENN GYÖRGYI

Vaszkuláris patofiziológia / atherosclerosis
című program

Programvezető: Dr. Prohászka Zoltán, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Prohászka Zoltán, egyetemi tanár

**Molekuláris mechanizmusok és ezek változása a terápia hatására
thromboticus thrombocytopeniás purpurában**

Doktori értekezés

Dr. Réti Marienn Györgyi

Semmelweis Egyetem

Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Prohászka Zoltán, az MTA doktora, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Istenes Ildikó PhD, egyetemi adjunktus

Petrusné Dr. habil. Miltényi Zsófia PhD, egyetemi docens

Komplex vizsga bizottságának elnöke:

Dr. Tulassay Tivadar az MTA doktora, professor emeritus

Komplex vizsga bizottságának tagjai:

Dr. Molnár Zsuzsa PhD, főorvos

Dr. M. Tóth Antal, az orvostudományok kandidátusa, egyetemi docens, régió igazgató

Dr. Cseprekál Orsolya PhD, egyetemi adjunktus

Budapest

2022

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1 BEVEZETÉS	7
1.1 Thromboticus thrombocytopeniás purpura	7
1.1.1 Incidencia	10
1.1.2 A kórkép definíciója.....	10
1.1.3 Patomechanizmus.....	10
1.1.3.1 Az ADAMTS13 enzim és szubsztrátja, a von Willebrand faktor....	11
1.1.3.2 A deficiens ADAMTS13 enzimaktivitás szerzett, autoimmun formája.....	19
1.1.3.3 A deficiens ADAMTS13 enzim aktivitás veleszületett, genetikai formája.....	23
1.1.4 Klinikai tünetek.....	25
1.1.5 Diagnózis.....	27
1.1.6 Terápia.....	31
1.1.6.1 Plazmaterápia.....	32
1.1.6.2 Immunszuppresszív kezelés.....	33
1.1.6.3 A von Willebrand faktor és a thrombocyta interakció gátlása.....	34
1.1.6.4 Thrombocytafunkció-gátló szerek	34
1.1.6.5 Splenectomia.....	35
1.1.7 Prognózis, hosszútávú eredmények.....	35
1.1.8 Standardizált terminológia	35
2 CÉLKITŰZÉSEK	37
2.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával .	37
2.2 A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.	38
2.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.	38

3	BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	40
3.1	Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával .	40
3.1.1	Beteg és minta beválasztási kritériumok	40
3.1.2	Vizsgálati módszerek	41
3.1.3	Statisztikai analysis	43
3.2	A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.	44
3.3	Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomkövetése napjainkig. 46	
3.3.1	Beteg és minta beválasztási kritériumok	46
3.3.2	Vizsgálati módszerek	49
3.3.3	Statisztikai analysis	52
4	EREDMÉNYEK	53
4.1	Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával .	53
4.2	A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.	57
4.3	Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomkövetése napjainkig. 59	
5	MEGBESZÉLÉS	67
5.1	Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával .	67
5.2	A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.	75

5.3	Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.	76
6	KÖVETKEZTETÉSEK, AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....	81
6.1	Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával .	81
6.2	A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.	81
6.3	Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.	82
7	ÖSSZEFOGLALÁS.....	84
8	SUMMARY	85
9	IRODALOMJEGYZÉK.....	86
10	SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	117
10.1	Az értekezéshez kapcsolódó közlemények (összesített IF: 9,019).....	117
10.2	Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények (összesített IF: 185,454)	117
11	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	129

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABBHTC	Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központ
ADAMTS13	a d isintegrin and m etalloprotease with t hrombospondin type 1 motifs, member 13
aHUS	atípusos haemolyticus uraemiás syndroma
ANA	antinukleáris antitestek
ANCA	antineutrophil cytoplasmaticus antitestek
ASA	acetylsalicylsav
AZA	azathioprin
BMI	testtömeg (body mass) index
CFB	komplement B faktor (complement factor B)
CFH	komplement H faktor (complement factor H)
CFI	komplement I faktor (complement factor I)
CI	konfidencia intervallum
CMV	cytomegalovírus
cTTP	congenitalis thromboticus thrombocytopeniás purpura
CUB domain	complement component C1r/C1s, Uegf, and bone morphogenic protein 1
D+HUS	diarrhoea asszociált HUS
DGKE	diacylglycerol kinase ϵ
dsDNA	kettős szálú DNS
EBV	Epstein Barr vírus
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EIA	enzyme immunassay
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ENA	extrahálható nukleáris antigén
ER	endoplasmaticus reticulum
ESDR	end stage kidney disease (végstádiumú vesebetegség)
FRET	fluorescence resonance energy transfer assays
GBM	glomerulus basalmembrán
GFR	glomerulus filtrációs ráta
GPIba	Iba glycoprotein
HELLP	h aemolysis, e levated l iver enzymes, l ow p latelet c ount;
HIV	humán immundeficiencia vírus

HR	hazard ratio
HUS	haemolyticus uraemiás syndroma
IC	immunkomplex
IQ tartomány	interquartilis tartomány
ITP	immun thrombocytopeniás purpura
iTTP	(auto)immun thromboticus thrombocytopeniás purpura
IVIG	intravénás immunglobulin
LMWH	low molecular weight heparin (kis molekulásúlyú heparin)
LMWVWF	low molecular weight VWF (kis molekulásúlyú VWF)
LPS	lipopolysacharid
MASP2	mannose-binding lectin associated serine protease
MCP	membrane cofactor protein (CD46)
MCV	mean corpuscular volume
MMACHC	methylmalonic aciduria and homocystinuria type C protein
NAC	N-acetyl cystein
NET	neutrophil extracellular traps
OPG	osteoprotegerin
OR	odds ratio (esélyhányados)
PCR	polymerase láncreakció
PEX	plasma exchange (plazmacsere)
P-HUS	Pneumococcus HUS
RDG motif	tripeptide Arg-Gly-Asp
RTX	rituximab
SLE	systemas lupus erythematosus
STEC	Shiga-toxin producing Escherichia coli
TBDH	thrombomodulin
TMA	thromboticus microangiopathiák
tPA	tissue plasminogen activator (szöveti plasminogén aktivátor)
TTP	thromboticus thrombocytopeniás purpura
ULVWF	ultra large VWF (ultra nagy VWF)
USS	Upschaw-Schulman syndroma
VCR	vincristin

VEGF	vascular endothelial growth factor (vascularis endotheliális növekedési faktor)
VWA	von Willebrand A
VWD	von Willebrand D
VWF	von Willebrand faktor
VWFpp	propeptid
VWC	von Willebrand C
WPt	Weibel Palade test

1 BEVEZETÉS

1.1 Thromboticus thrombocytopeniás purpura

A thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) a thromboticus microangiopathiák (TMA) közé sorolt betegség. Ezekben közös a szervezet kis ereiben (arteriolákban, kapillárisokban) disszemináltan képződő microthrombosisok, melyek másodlagosan consumptiós thrombocytopeniához és mechanikus – fragmentocytás – haemolysishez vezetnek, valamint a kisér occlusio következtében átmeneti vagy irreverzibilis szervi működési zavart, elégtelenséget okoznak. A TTP-t először Eli Moschcowitz írta le 1924-ben egy jellegzetes klinikai pentád formájában (1): consumptiós thrombocytopenia, fragmentocytás haemolysis, fluktuáló neurológiai tünetek, vesekárosodás és láz. A betegség nagyon ritka volt, főleg a fiatal felnőtt nőket érintette és szinte kivétel nélkül halállal végződött. 1960-ban Schulman (2), majd 1978-ban Upshaw (3) egy-egy fiatal lány esetét közölték, akik születéstől, ill. 6 hónapos koruktól periodikusan visszatérő, thrombocytopeniás és Coombs negatív haemolyticus tüneteket mutattak, mely később a TTP familiáris formájának bizonyult. 1955-ben Gasser szintén egy hasonló betegéget közölt (4), melyben a hematológiai tünetek azonosak, a szervi ischaemiás tünetek pedig eltérőek voltak: nem neurológiai tünetek, hanem vesekárosodás volt a jellemző. A kórképet haemolyticus uraemiás szindrómának nevezték (HUS) el. Ez a forma inkább a gyermekeket érintette és a végső kimenetel lényegesen kedvezőbbnek látszott. A későbbi gyakorlatban azonban a klinikai és a labor eltérések jelentős átfedése miatt az elkülönítés nem volt egyszerű, ezért az irodalomban egyre gyakrabban használták a TTP/HUS vagy HUS/TTP elnevezést is (5). Az „egy kórkép két szélsőséges klinikai megjelenéssel” teóriát erősítette, hogy a 60-as évektől elinduló empirikus plazmaterápia mind a TTP (6), mind a familiáris TTP (2, 3) mind a HUS (7) klinikai képe esetén is hatásos volt. A TTP elnevezés Singertől (8), míg a TMA elnevezés Symmerstől (9) származik. Érdekes módon utóbbit Symmers a TTP név helyett javasolta, a későbbiekben azonban egyre inkább gyűjtő névként kezdték el használni. A patomechanizmus csak a 90-es évek végére tisztázódott megnyugtatóan. Az addig sokak által egységesnek gondolt betegség önálló kórképekre hullott. A háttérmechanizmusok megismerése új utakat nyitott a terápiában a célzott kezelések lehetőségével. A TMA-k közé sorolt kórképek jelenlegi osztályozását az **1. táblázat**-ban tüntettem fel (10).

1. táblázat: A thromboticus microangiopathiák jelenlegi osztályozása (10)

PRIMER	<p>Thromboticus Thrombocytopeniás Purpura (TTP)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Congenitalis TTP (cTTP, Upshaw-Schulman syndroma): ADAMTS13 mutáció • Autoimmun TTP (iTTP): ADAMTST13 enzim ellenes antitest <p>Atípusos Haemolyticus Uraemiás Syndroma (aHUS)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Komplement alternatív úti diszreguláció <ul style="list-style-type: none"> – Congenitalis (HF, IF, MCP, C3, BF génmutációk) – Szerzett, autoimmun aHUS: HF, IF ellenes antitestek • De novo aHUS veseátültetés után • Cobalamin defektyushoz társuló aHUS (MMACHC mutációhoz társult) • Véralvadási kaszkád dependens aHUS <ul style="list-style-type: none"> – DGKE mutáció okozta HUS – Thrombomodulin mutáció – Plazminogén mutáció • Ismeretlen aetiológiájú aHUS
INFEKCIÓ ASSZOCIÁLT	<ul style="list-style-type: none"> • Verotoxin asszociált (STEC HUS, régebben típusos vagy D+ HUS) • Neuraminidase asszociált HUS (P-HUS, Streptococcus pneumoniae, Influenza A/H1N1-HUS)
PERIPARTUM	<ul style="list-style-type: none"> • Súlyos preeclampsia • HELLP syndroma • Congenitalis TTP • Autoimmun TTP • Atípusos HUS
SECUNDER	<ul style="list-style-type: none"> • Fehérjevesztő állapotok • HIV infekció • Sepsis • Daganatos betegségek és/vagy kemoterápiák • Gyógyszerek (ticlopidin, interferon, calcineurin inhibitorok, sirolimus, VEGF gátlók...) • Autoimmun betegségek (SLE, antiphospholipid syndroma, scleroderma...) • Óssejt és solid szerv-transzplantációk • Malignus hypertonia • Pancreatitis
<p><u>Rövidítések:</u> ADAMTS13: A desintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13; aHUS: atípusos HUS; BF: komplement B faktor; D+: diarrhoea pozitív, HF: komplement H faktor; IF: komplement I faktor; HELLP: <u>h</u>aemolysis, <u>e</u>levated <u>l</u>iver enzimes, <u>l</u>ow <u>p</u>latelet count; HIV: humán immundeficiencia vírus; HUS: haemolyticus uraemiás syndroma; MCP: membrane cofactor protein (CD46); MMACHC: methylmalonil aciduria és homocysteinuria; P-HUS: Streptococcus pneumoniae HUS, SLE: systemás lupus erythematosus; STEC: Shiga-toxin producing Escherichia coli; TTP: thromboticus thrombocytopeniás purpura; cTTP: congenitalis TTP; iTTP: (auto)immun TTP; TBDH: thrombomodulin, VEGF: vascular endothelial growth factor</p> <p>A táblázat a (10) referencia alapján készült.</p>	

A táblázatban jelzett molekuláris mechanizmusokat a későbbi fejezetekben részletesen fogom tárgyalni. A TMA-k közé sorolt kórképek tipikus életkor szerinti megjelenését a **2. táblázat**-ban foglaltam össze (11).

2. táblázat: Ismert patomechanizmusú TMA kórképek életkori megjelenése (11)			
Diagnózis	Tipikus életkori kezdet	Klinikum	A diagnózist igazoló tesztek
Congenitalis TTP (Upshaw-Schulman sy, USS)	újszülöttkortól a felnőtt korig	súlyos sárgaság „burgundi” vizelet jelentősebb hematuria nélkül, hasonló tünetek vérrokonoknál vagy testvéreknél, újszülöttkori halál	ADAMTS13 aktivitás <10 % ADAMTS13 inhibitor hiánya ADAMTS13 génmutáció
'Late-onset' USS	terhesség	magzati fejlődési elmaradás vagy magzati elhalás (42%), vagy klinikai TTP a 3. trimeszterben	
Methylmalonil aciduria-HUS (Cobalamin-C defektus)	újszülöttkor – <6 hónapos életkor	táplálási nehézség, növekedési és fejlődési elmaradás, hypotonia	hyperhomocysteinaemia, hypomethioniaemia, methylmalonilaciduria, MMACHC mutáció
Diacylglycerol kinase epsilon mutáció (DGKE)	újszülöttkor - <1-2 éves életkor	hypertonia, hematuria, proteinuria, veseelégtelenség	DGKE génmutáció
Pneumococcus-HUS (neuraminidase-HUS)	<2év	láz, invazív S. pneumoniae infekció: pneumonia, meningitis, septicaemia (empyema, subduralis tályog)	pozitív direkt Coombs, T antigén aktiváció, pozitív tenyésztés (vér, liquor), PCR
STEC-HUS (régebben D+HUS)	>6 hónap–<5 év	Akut gastroenteritis, (véres) hasmenés az elmúlt 2 hétben STEC vagy Shigella dysenteriae endemiás területen	széklettenyésztés: MacConkey agar: 0157:H7, PCR: Shiga toxin savó: anti-LPS antitestek
Autoimmun-TTP	serdülőkortól a felnőtt korig	hematológiai tünetek idegrendszeri tünetek ± változó mértékű akut vesekárosodás láz	ADAMTS13 aktivitás <10 % ADAMTS13 inhibitor
Komplement-mediált aHUS	születéstől a felnőtt korig	hematológiai tünetek akut vesekárosodás tünetei atípiára utaló tünetek	komplement C3, C4 alternatív-összkomplement HF, BF, IF, MCP expresszió anti-HF-antitest komplement genetikai vizsgálat
<p>HUS: haemolyticus uraemiás syndroma; TTP: thromboticus thrombocytopeniás purpura; ADAMTS13: A desintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13; MMACHC: methylmalonil aciduria és homocysteinuria; PCR: polimeráz láncreakció; STEC: Shiga-toxin producing Escherichia coli; LPS: lipopolysacharid; HF: komplement H faktor; IF: komplement I faktor; BF: komplement B faktor; MCP: membrane cofactor protein (CD46)</p> <p>A táblázat a (11) referencia alapján készült.</p>			

1.1.1 Incidencia

A TTP a nagyon ritka betegségek közé tartozik. Incidenciáját korábban 1/1 millióra becsülték (12) a legfrissebb adatok alapján az éves prevalencia kb. 10/1 millió, az új esetek előfordulása pedig 1-2/1 millióra tehető (13). A betegek kb. 2/3-a nő, a fiatal-középkorú felnőtteket érinti leggyakrabban, de a születéstől a késő öregkorig előfordulhat.

1.1.2 A kórkép definíciója

Az Eli Moschcowitz által leírt klasszikus klinikai pentád: a consumptiós thrombocytopenia, fragmentocytás haemolyticus anemia, fluktuáló idegrendszeri tünetek, veseérintettség, és láz együtteséből áll. A teljes pentád jelenleg már csak az esetek igen kis százalékában mutatható ki (13), az első 3 tünet (triád) jóval gyakoribb. *A klinikai diagnózis kimondásához elegendő a más okkal nem magyarázható thrombocytopenia, fragmentocytás haemolyticus anemia (diád) igazolása.* Mortalitása jelenleg kb. 5-20%, mely a 70-es évek előtt meghaladta a 90%-ot. Szerzett idiopathiás (autoimmun), congenitalis/familiáris, valamint másodlagos formái ismertek. A klinikai lefolyás lehet egy epizódos vagy relabáló. A congenitalis formában a relapsus lehet ciklikus, szabályosan ismétlődő epizódokkal, míg a szerzett formában általában intermittáló. Ez utóbbi azt jelenti, hogy a shubok változó időintervallummal ismétlődnek.

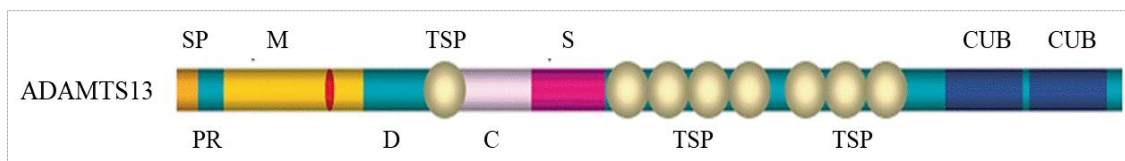
1.1.3 Patomechanizmus

A 80-as évek elején Moake (14) vizsgálatai terelték a figyelmet a von Willebrand faktorra (VWF) TTP-ben: a krónikusan visszaeső betegek keringésében remisszióban kimutatható, aktív szakban eltűnő, ultranagy VWF multimerek (ultra large VWF, ULVWF) alapján feltételezte, hogy talán egy VWF-t hasító enzim, egy „depolymerase” hiánya okozhatja a microvascularis thrombosisokat. 1985-ben Moake igazolta, hogy nyíróerő hatására a thrombocyták spontán aggregációja jön létre nagy VWF multimerek jelenlétében. Az aggregáció kiváltásában az ULVWF multimerek mintegy 5-15-ször hatékonyabbnak bizonyultak, mint a keringésben normálisan előforduló nagy multimerek (15). Később Asada (16) immunhisztokémiai vizsgálatai is arra utaltak, hogy a TTP megoldása a VWF körül keresendő: a TTP-s microthrombosisok thrombocytát és nem fibrinogént, hanem VWF-t tartalmaztak. 1994-ben Tsai igazolta, hogy a normál

plazmában nyíróerő hatására a VWF proteolysisse következik be (17). 1996-ban egymástól függetlenül Furlan (18) és Tsai (19) azonosítottak a plazmában egy enzimet, mely a VWF-t a tyrosine-1605 és a methionine-1606 kötésénél hasította. A proteolysis csak akkor jött létre, ha előkezelték a fehérjét vagy a vizsgálatot magas nyíróerő mellett végezték el. Ebből arra következtettek, hogy a hasításhoz a VWF nyíróerő okozta konformáció változás szükséges. 1997-ben Furlan a VWF-cleaving protease enzimaktivitás csökkenését észlelte a TTP krónikusan relabáló (20), majd 1 évvel később a TTP szerzett formájában (21) is. Ugyanebben az évben igazolták az enzim ellen irányuló inhibitoros antitestek jelenlétét a TTP szerzett formájában (22, 23). Az enzimet ADAMTS13-nak (**a** **d**isintegrin **a**nd **m**etalloprotease with **t**hrombospondin type 1 motifs, member **13**) nevezték el (24). 2001-ben Levy igazolta az ADAMTS13 génmutáció szerepét a TTP familiáris formájában (25).

1.1.3.1 Az ADAMTS13 enzim és szubsztrátja, a von Willebrand faktor

Az ADAMTS13 enzim génje a 9-es kromoszóma hosszú karján helyezkedik el (9q34). Az enzim 1424 aminosavat tartalmazó modularis fehérje a következő módon épül fel az N terminális oldalról indulva (**1. ábra**): szignálpeptid (SP), propeptid (PR), zink dependens metalloprotease domén (M), disintegrin-szerű domén (D), 1. thrombospondin (thrombospondin type 1 repeat, TSP) domén, cisztein gazdag domén (C), spacer (S) domén, további 7 thrombospondin domén, végezetül 2 CUB domén követ (26).



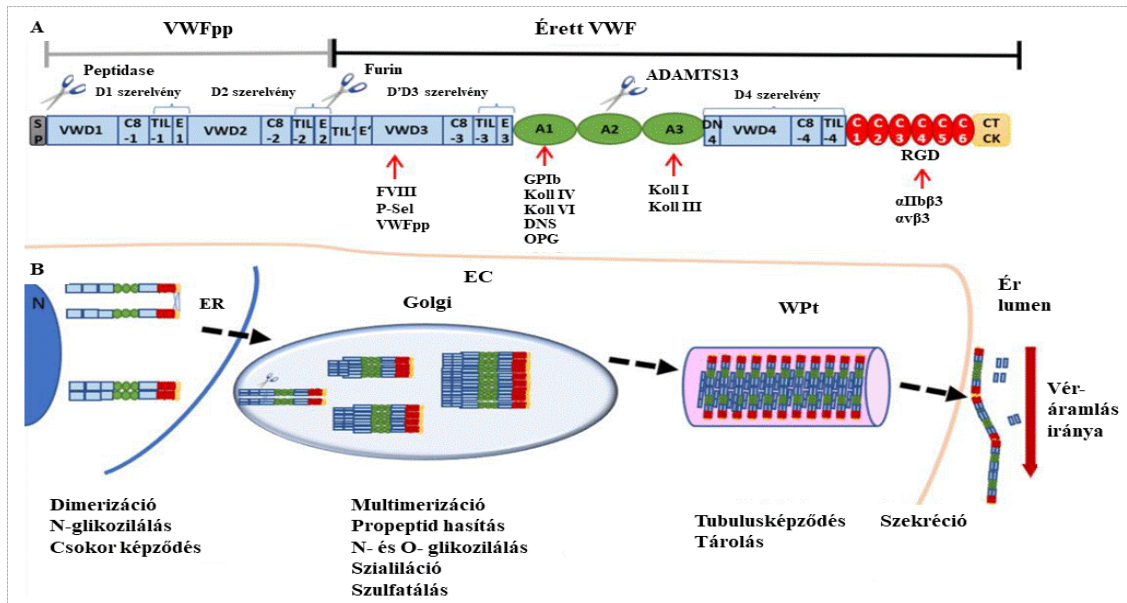
1. ábra: Az ADAMTS13 enzim szerkezete (26): ADAMTS13: a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13, SP: szignálpeptid, Pr: propeptid, M: metalloprotease, D: disintegrin-szerű domén, TSP: thrombospondin domén, C: cisztein gazdag domén, S: spacer, CUB: CUB domén. Az ábra a (26) referencia alapján készült.

Az ADAMTS13 enzimet döntően a máj csillagsejtjei (hepatic stellate cells) termelik, ezen kívül csak a vascularis endothel, podocyta, vese tubulus epithel sejtei, ill. a thrombocyták

képesek biológiailag aktív enzim előállítására (26). Az enzim élettani szerepe a Willebrand faktor (VWF) fiziológiás lebontása.

A Willebrand (VWF) faktor szintéziséért felelős 52 exont tartalmazó gén a 12-es kromoszóma rövid karján helyezkedik el. A VWF multimerekből felépülő óriás glycoprotein. Az endothel és a megakaryocyták termelik és az endothel sejtek Weibel Palade testjeiben (WPt), valamint a thrombocyták α -granulumaiban tárolódik. Alapvető szerepet játszik a haemostasisban. Érfalsérüléskor a kollagénhez kötődve segíti a thrombocyták adhézióját és aggregációját. Emellett a VIII. faktor hordozója, megvédve azt a lebomlástól (27), valamint szerepet játszik a gyulladásban (28) és az angiogenesisben (29) is. Az endoplasmás reticulumban pre-pro-VWF monomer formájában szintetizálódik. Az elsődleges transzlációs termék 2813 aminosavat tartalmaz, mely egy 22 aminosavból álló szignálpeptidből, 741 aminosavból álló propeptidből (VWFpp) és a 2050 aminosavat tartalmazó, érett VWF alegységből áll. A VWF az egyik legnagyobb és legbonyolultabb mozaik szerkezetű, doménekből felépülő fehérje. Doménjei a von Willebrand A (VWA), von Willebrand C (VWC) és a von Willebrand D (VWD) fehérje családba tartoznak (30). A faktort 4 ismétlődő domén alkotja a D, A, C és CK, a következő sorrendben: D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK. A D1-D2 a VWFpp-t, míg a D'-CK domének az érett alegységet képezik (**2. ábra**)

A D'D3 domén felel a VIII.faktor, a P selectin (P-sel) és a VWFpp kötéséért. Az A1-es domén tartalmazza a thrombocyták GPIIb α (thrombocytá GP Ib-IX-V komplex) receptor kötő helyét (31), mely azonban csak konformáció változást követően válik hozzáférhetővé (32). Emellett a IV-es (33), és a VI-os típusú kollagén (34), a DNS (35), osteoprotegerin (OPG) (36) és a heparin kötésében is részt vesz. A heparin kompetitív módon gátolja a VWF és thrombocytá GPIIb α kapcsolódást (37). Az A2-es doménon található az ADAMTS13 hasítási helye a Tyr1605 és a Met1606 aminosavak között (38). A A3-as domén az I-es és III-as típusú kollagén fő kötőhelye (39). Az Arg-Gly-Asp szekvenciájú, a VWC4 domén RGD-nek nevezett szakaszában van az integrin α IIB β 3 (thrombocytá GPIIb/IIIa receptor) és az α v β 3 kötőhelye (30). A CK domének a dimerizációban vesznek részt (27).



2. ábra: A VWF szerkezete és multimer bioszintézise (40). **(A)** A VWF pre-pro-monomerként szintetizálódik egy szignálpeptiddel (SP) és egy pro-peptiddel (VWFpp). Ez utóbbi tartalmazza a D1 és D2 egységeket, amelyek mindegyike egy VWD, C8, TIL és E doménből épül fel. A VWFpp-t a furin lehasítja, így az érett VWF a D'D3, az A1, A2 és A3, a D4, a C1-C6 és a CTCK (C terminális CK) doméneket tartalmazza. A VWF hasítása és így lebomlása az A2 domén Tyr1605 és Met1606 között történhet meg az ADAMTS13 enzim segítségével. A VWF-hoz kötődő vegyületek az egyes egységek alatt vannak feltüntetve: VIII-as véralvadási faktor (FVIII), P-selectin (P-sel) és a VWFpp a D'D3-mal lép kölcsönhatásba; az A1 domén az Iba glycoprotein (GPIIb), a IV. és VI. kollagén (Koll), a DNS és az osteoprotegerin (OPG) kötőhelye; az I. és III. kollagén az A3-hoz kötődik; és a C4-ben lévő RGD-motívum (Arg-Gly-Asp tripeptide) az α IIb β 3 (= GPIIb/IIIa receptor) és az α v β 3 integrinek kölcsönhatási helye. **(B)** Az SP irányítja a transzlációt az endoplazmatikus retikulumban (ER), ahol a monomerek dimerizálódnak a CTCK (C terminális CK) domének között három diszulfid kötés képződésével. További N-glikoziláció indul be, és a dimerek „csokorszerű” formációba rendeződnek, zárt szarrégióval. A Golgi-készülékben a dimerekből a D'D3 domének közötti diszulfidkötések útján multimerek alakulnak ki. A VWF pedig erősen glikozilált, sziálilált és szulfatált. A VWFpp bár le van hasítva, de nem kovalens módon kötődik, és segíti a multimerezációt, majd később a tubulusképzést és a Weibel-Palade testekben (WPB) történő tárolást is. Az ér lumenébe történő szekréció után a VWFpp felszabadul. Az ábra a (40) referencia alapján készült.

A fehérje nagyon sok ciszteint tartalmaz, melyek a diszulfid hidak képzéséhez szükségesek. Az érett alegység jelentős glikoziláción esik át, 18 N-kötött és 12 O-kötött szénhidrát oldallánccal gazdagodik (27). A megfelelő glikoziláció a szintézishez és a szekréciónak elengedhetetlen (41), továbbá szerepe van a GPIIb α receptorral (42), ill. az ADAMTS13 enzimvel való interakció kialakításában is (43). A szénhidrát oldallánccok között megtalálhatjuk a ABH vércsoport rendszerre jellemző oligosaccharidokat is (44). A szignálpeptid eltávolítása után a pro-VWF dimerizálódik az endoplazmatikus retikulumban: a monomerek a C terminális végükön lévő CK (cystein knot) doménjei kapcsolódnak össze diszulfid hidakon keresztül „tail-to-tail” (farok a farokhoz) módon. A Golgi acidikus pH-ja mellett a dimerek csokorszerű („bouquet”) szerkezetet öltenek (45). Ezekből a multimerek kialakulása a trans-Golgi hálózatban (TGH) történik a dimerek N-terminális D'D3 domének diszulfid hidakon keresztüli „head-to-head” (fej a fejhez) összekapcsolódásával.

A VWFpp furin protease segítségével leválik a fehérje további glikozilációjával és szulfatálásával párhuzamosan. A hasítást követően a VWFpp nem kovalens kötésben marad a VWF-ral, véglegesen csak akkor válik le, amikor a VWF a keringésbe kerül. A VWF egy jellegzetesen hatalmas helikális tubulusokba összehajtogatott szerkezetben, ultranagy formában (ULVWF) tárolódik a szivar alakú WPt-ekben. Az ULVWF mérete elérheti a 20.000 kDa-t (27). Ez a VWF legadhezívabb, legreaktívabb formája (15, 27). A WPt-k képződéséhez a VWF jelenléte elengedhetetlen. A tubularis szerkezet kialakulásához a VWF N-terminalis D1D2D'D3 szakasza szükséges. A WPt-ek a VWF mellett P selectint és még számos egyéb fehérjét tartalmaznak. A WPt-ek érésük során számos változáson esnek át, a szerkezetük egyre merevebbé és tömörebbé válik. (46). Az endothel sejtből a VWF három úton távozhat: konstitutív, basalis vagy szabályozott szekréciónal. A konstitutív szekréciónal stimulust nem igényel és a WPt-ktől függetlenül zajlik, baso-lateralisan a kis molekula súlyú VWF-ok (LMWVWF) szekréciónalját eredményezi. A WPt-ktől az ultranagy VWF (ULVWF) szekréciónalja túlnyomórészt apicalisan történik basalis és szabályozott szekréciónal útvonalon keresztül. A basalis szekréciónal során ingerek hiányában a VWF folyamatosan szabadul fel a WPt-ktől, míg a szabályozott szekréciónalhoz valamilyen agonista hatás (histamin, thrombin, epinephrin, vasopressin, stb) szükséges. A basalis szekréciónal elsődlegesen a normális VWF antigén szintet biztosítja, míg a stimulált szekréciónal a trombocyták érfaalhoz történő toborzásáért

segíti elő (47). A szekréció maga exocytosisal történik. Ez történhet egyesével vagy a WPt nanovesiculák által közvetített előzetes fúzióját követő multigranuláris szekrécióval, ún. szekréciós hüvelyeken („pod”) keresztül (48) vagy az „elhúzó csók” exocytosisal (49). Az elképzelések szerint utóbbi 2 mechanizmus lehetővé teszi a WPt tartalmának differenciált kibocsátását. Míg a multigranuláris szekréciónál elsősorban a haemostasis faktorok távozása megy végbe a gyulladáshoz mediátorok visszatartása mellett, addig az elhúzó csók exocytosisnál a kis molekulású anyagok ürülnek a VWF, VWFpp, valamint a P-sel retenciója mellett (48, 49).

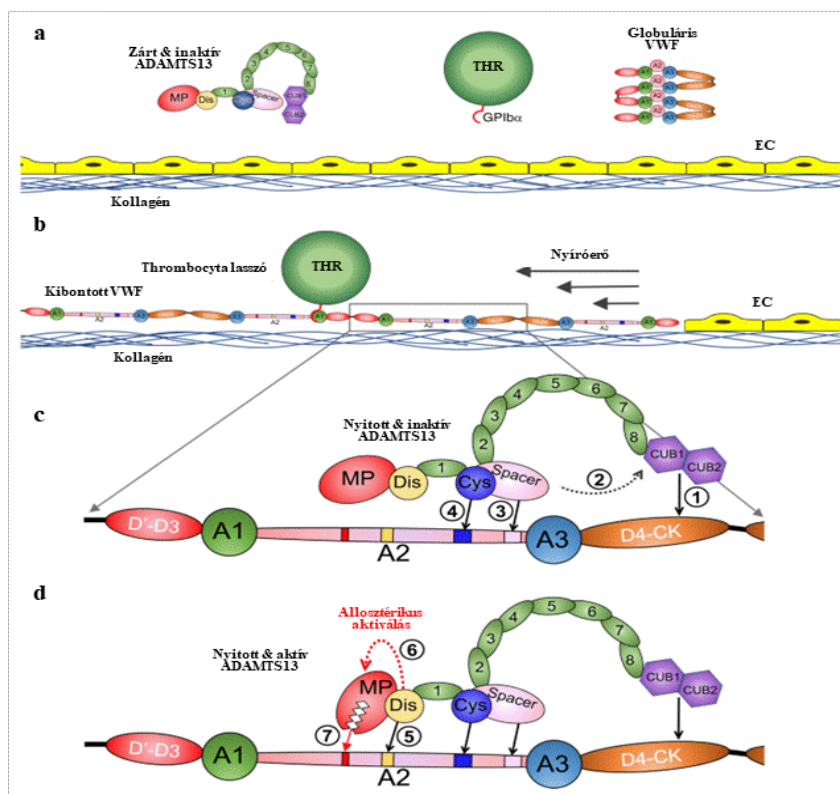
A WPt-ekből a véráramba kerülő VWF tubuláris szerkezete a megemelkedő pH miatt felbomlik. Főleg a legnagyobb multimer (ULVWF) a nyíróerő hatására kitekeredve, hosszú fonalakat képezve az endothellel összeköttetésben maradhatnak. A kinyíló szerkezet lehetővé teszi az ADAMTS13 enzim általi proteolysist (50). A WPt-ből kiáramló többi multimer a magasabb pH miatt a keringésben globuláris konformációt ölt, melyben csak a molekula fibrinogén kötő helye (A3 domén), a C terminális D4CK domén szakasza férhető hozzá. Mind a thrombocyt GPIb (A1 domén), mind az ADAMTS13 hasító hely (A2 domén) védett, fedett állapotban van. Ennek az a célja, hogy thrombocyt adhézió és aggregáció mindaddig ne legyen, amíg nincs rá szükség, továbbá védi a fehérjét a felesleges proteolysistól is. Az ADAMTS13 képes a VWF-hoz kapcsolódni és vele funkcionálisan komplex formájában keringeni: a becslések szerint kb. 250 VWF monomerre jut egy ADAMTS13 enzim, ami a teljes keringő ADAMTS13 mennyiség kb. 3%-ának felel meg. Ez azt jelenti, hogy az ADAMTS13 be tud épülni a thrombusba, ahol közvetlenül képes hatását kifejteni (51).

Az ADAMTS13 enzim működése konstitutív (52). Az eddigi adatok alapján nincs fiziológiás inhibitora. Patológiai körülmények között viszont számos anyag - IL-6 (53), szabad haemoglobin (54), thrombin és plasmin (55), FXIa (56) - képesek az enzim működését gátolni, azonban az enzim aktivitását döntően a szubsztrát – VWF multimer – konformációja szabja meg.

A VWF haemostatikus aktivitása a multimer méretétől függ. A legnagyobb multimer a legaktívabbak (15, 27), nem csak mivel több kötő helyet tartalmaznak, de a nyíróerő is jobban hat rájuk (52). Ez egyúttal azt is jelenti, hogy a legnagyobb multimer bomlanak le a leggyorsabban (57). A nyíróerő megnő, ha a VWF a sejtfelszínre le van horgonyozva (52). Normál körülmények között a VWF globuláris formában kering, amelyben mind a

thrombocytá, mind az enzim hasítási helye fedve vannak, ezért a VWF proteolysiséhez a fehérje kibontása szükséges (38, 51, 52, 57).

Az ADAMTS13 enzimnek a VWF-hoz való leköötődése egy nagyon komplex, több lépcsős folyamat (51, 52, 59). A VWF kollagén kötő helye, ill. az ADAMTS13 kezdeti kötését biztosító D4CK szakasza konstitutív módon mindig hozzáférhető helyzetben van. Az első lépésben az ADAMTS13 enzim CUB domének és a VWF D4CK szakasza között jön létre reverzibilis kapcsolat (**3. ábra**). Ez a kötés az ADAMTS13 alloszterikus konformáció változását eredményezi (60), mely során az enzim zárt hurka kinyílik és a spacer domén területén az A2-es domén kötésért felelős rejtett kötőhelyek szabaddá válnak (58, 59, 60). Mindez az enzim megfelelő pozicionálásban játszik szerepet, valamint lehetővé teszi, hogy a szubsztrát az enzimjével komplexben, „beélesítve” keringjen mindaddig, amíg a nyíróerő a VWF konformációját meg nem változtatja. Ez a folyamat egyúttal megvédheti az enzimet (58) a patológiás körülmények között bekövetkező proteolitikus enzim degradációtól (55, 56) is. A szekréciónak, kollagénhez való kötődésnek vagy a microvasculaturán való áthaladáskor megnövekvő nyíróerő hatására a VWF kinyílik, feltárva az A1-es doménen a thrombocytá GPIb α kötőhelyeket, mely inentől kezdve képes a thrombocyták „befogására”. A faktorra ható feszülési erő az A2-es domén kinyílását eredményezi (2.lépés). A folyamat során rejtett kötőhelyek válnak szabaddá, melyek biztosítják az enzim spacer doménjének a faktor A2-es doménjéhez való kötődést (3.lépés). Ezt követően az enzim disintegrin-szerű doménje és a faktor A2-es doménje között jön létre kritikus, alacsony affinitású kölcsönhatás, mely a hasítási hely pozicionálásában játszik fontos szerepet (4.lépés). A következő lépésben az enzim MP domén S3 alegysége és az A2-es domén kapcsolódik össze (5.lépés), majd az enzim MP domén S1 és S1' alegységei kötődnek az A2-es doménhez (6.lépés) és végezetül a Tyr1605-Met1606 kötés között létrejön a proteolysis (7.lépés). A teljes folyamatot molekuláris zippzárnak hívják (52, 59). A hasítást követően lecsökken az affinitás, az enzim leválik és kész újabb kapcsolódást és hasítást létrehozni. A hasított faktor kisebb mérete miatt (újra) globuláris szerkezetet ölt (57).



3. ábra: Az ADAMTS13 enzim szubsztrát indukált aktiválódása (59). **a:** Normál körülmények között a von Willebrand-faktor (VWF) globuláris konformációban kering a plazmában, amelyben az A1 domén thrombocyták kötőhelyei rejtve vannak. Az ADAMTS13 szintén „zárt” konformációban kering, amelyet a C-terminális CUB domének és a központi spacer domén kölcsönhatása stabilizál. Az ADAMTS13 metalloprotease (MP) doménje inaktív konformációval is rendelkezik, amelyben az aktív hely hasadékát a Ca^{2+} -kötő hurok elzárja. Ez a nem célzott szubsztrát proteolysist megakadályozza, valamint rezisztenciát biztosít a plazma inhibitorokkal szemben. **b:** Az érkárosodást követően az endothel sejt (EC) felszínére kerül a subendotheliális kollagén, melyhez a globuláris VWF lekötődik az A3 doménon keresztül. Az áramló vér által kifejtett nyíróerők hatására megnyúlt konformációt vesz fel, amely hatására kinyílik az A1 domén. Ez a thrombocyták felületén lévő GPIIb α receptoron keresztül képes megkötni a thrombocytákat. A VWF megnyúlása a VWF A2 domént is kinyitja egy lineáris polypeptid konformációvá, amely hozzáférhetővé teszi az ADAMTS13 számára a Tyr1605-Met1606 hasítási helyeket és a faktor fogékonyává válik az ADAMTS13 proteolysisére. **c és d:** Az ADAMTS13 több interakción keresztül kapcsolódik a kibontott VWF-hoz. (1) A CUB domének megkötik a VWF D4-CK szakaszát. (2) Ez indukálja a

CUB domének elválását a spacer doméntől. (3) A spacer domén és a (4) ciszteinben (Cys) gazdag domén kapcsolódik a kibontott A2 domén C-terminális régiójához, hogy az enzimet és a szubsztrátot közel hozza egymáshoz. (5) Miután a kötés létrejött, a disintegrin-szerű (Dis) domén kapcsolatba lép az Asp1614-Asp1622 VWF maradékokkal. (6) Ez a kölcsönhatás allosztérikus változást indukál az MP doménben, konformációs változás útján megbontja a „kapuőr hármast”, amely elzárja az aktív hely hasadékát és felfedi az S1' zsebet. (7) Miután allosztérikusan aktiválódott, az MP domén proteolizálja a hasítási helyet. Az ábra a (59) referencia alapján készült.

Az ADAMTS13 enzim hiányában az endothelből (és a vérlemezkékből) származó ULVWF hasítása nem következik be, mely ULVWF multimerek perzisztálását eredményezi (14, 22). Ezek adhezivitása a normális multimerekénél jóval nagyobb; nyíróerő hatására a thrombocyták GPIIb α receptorának kötésére alkalmas A1 domain felszínre kerülésével a thrombocyták adhézióját és aggregációját indítják el a kiserekben (15, 52). Ezek az endothelről leszakadhatnak és tovább sodródhatnak, távoli szervekben is vérellátási zavart okozhatnak. A folyamat során consumptióos thrombocytopenia jön létre, mely nagyon ritkán másodlagosan vérzéshez is vezethet. Az enzim működéséhez Zn²⁺ és Ca²⁺ szükségesek (19).

Az enzim in-vitro felezési ideje kb. 1 hét, in vivo mindössze 2-4 nap (61). Ugyanakkor genetikai enzimhiányban, az enzim pótlása FFP transzfúzióval jóval hosszabb, akár 1-4 hetes klinikailag tünetmentes állapotot eredményez. Az ellentmondás háttérében az enzim endothelhez való leköttetését feltételezik, mely mintegy enzim reservoirként szolgálna. Egyes adatok szerint, ebben talán a CD36 receptornak (glycoprotein IV) (62) lenne szerepe. Fontos tényező, hogy a CD36 receptorhoz való kötődés nem csökkenti az enzim proteolytikus aktivitását. Korábban több munkacsoport írt le anti-CD36 antitesteket TTP-s betegekben. Ezek lehetséges, hogy az ADAMTS13 endothelhez történő kötődésének gátlásán keresztül fejtik ki hatásukat (63). Fontos megjegyezni, hogy az ADAMTS13 enzimaktivitás hiánya önmagában nem okoz TTP-t, csak a betegség kialakulásának kockázatát növeli (64). A folyamat elindításához diffúz endothel aktiváció vagy egyéb indító mechanizmus is szükséges. A leggyakoribb klinikai „triggerek” a fertőzések (légúti, húgyúti, gastrointestinalis), a terhesség, és a műtétek.

A TTP-re a deficiens ADAMTS13 enzimaktivitás jellemző (20-22). Az enzimaktivitás csökkenése lehet szerzett vagy veleszületett. Jelenleg a $\leq 10\%$ enzimaktivitást tekintjük deficiensnek, a régebbi irodalomban az $\leq 5\%$ és a $\leq 10\%$ alatti határérték egyaránt előfordult.

1.1.3.2 A deficiens ADAMTS13 enzimaktivitás szerzett, autoimmun formája

A szerzett formában az enzim működésének antitest mediált funkcionális gátlása és / vagy az enzim antitest mediált, fokozott eliminációja áll a háttérben (65). Az inhibitoros antitestek döntően a spacer domént érintik, de a betegek több mint felében egyéb domén specifikus antitestet is találtak (65-69).

A spacer doménon belül 3 ún. „forró pontot” is azonosítottak, melyekhez az antispacer auto-antitestek 85-99%-a kötődik (69). A vizsgálatban munkacsoportunk is részt vett. A leggyakrabban célzott területek között szerepelnek azok a régiók is, amelyek a VWF A2-es domén felismerésért felelősek, mely alapján az inhibitoros antitestek valószínűleg az enzim/szubsztrát kapcsolódásának gátlásával fejtik ki hatásukat (70, 71). A feltételezések szerint a C terminális domének ellen irányuló antitestek az enzim antitest mediált eliminációjában vesznek részt (65, 66, 75) és fordított összefüggést mutatnak a beteg kiindulási thrombocytaszámával (66). A betegek nyomonkövetése során az antitest domén specificitásának változását (epitop spreading) is leírták (67, 72).

Egy nagy vizsgálat szerint (72), melyben szintén részt vettünk, a TTP aktív szakában leggyakrabban anti-CS (cisztein gazdag + spacer domén ellenes), majd az anti-CUB antitestek mutathatók ki, ritkább a thrombospondin domének és a disintegrin szerű domének érintettsége és a legritkább, hogy a metalloprotease domén ellenes antitestet találjunk. Remisszióban az anti-CS antitestek vezető szerepe megmarad, az egyéb domének érintettsége lecsökken. Tíz százalék feletti ADAMTS13 aktivitás esetén az anti-CS antitestek is eltűntek. Összesen harminchárom féle antitest kombináció (immunprofil) volt kimutatható, ezek közül három bizonyult dominánsnak az aktív szakban, de nem volt összefüggés az immunprofil és a kórkép súlyossága között. Az anti-CS antitestek a fiatalabb, míg thrombospondin ellenes antitestek inkább az idősebb betegeknél voltak gyakoribbak. Érdekes módon az anti-CUB antitestek idegrendszeri tünetekkel rendelkező betegeknél nem fordultak elő, ellentétben korábbi adatokkal, ahol nem találtak összefüggést az antitest domén specificitása és a TTP súlyossága között (65). Fenti adatok

terápiás jelentőse igen nagy, mert ismeretükben célzott, antitest rezisztens rekombináns ADAMTS13 (rADAMTS13) enzim mutánsok fejleszthetők ki (73).

Az ADAMTS13 enzim ellen keletkező antitestek leggyakrabban az IgG osztályba tartoznak, az IgA és IgM isotípus előfordulása ritka (74-78). Az IgG és IgM típusú antitesteket kimutatták a 10% feletti ADAMTS13 aktivitással rendelkező secunder TMA-s esetek (74), sőt, egészségesek néhány százalékában is (79).

Az ADAMTS13 enzim ellenes antitestek leggyakrabban az IgG1 és IgG4 alosztályba sorolhatók (76, 78). Az első epizódban a betegek közel felénél jellemző az IgG1 dominancia, míg további relapsusok vagy azt követő remisszióban az IgG4 alosztály válik uralkodóvá a betegeknél (76, 78). Magas IgG4-szint és nem kimutatható IgG1 esetén a relapsus valószínűsége nagyobb, mint az alacsony IgG4 szint és kimutatható IgG1 esetén. Az IgG1 és IgG4 szintek között fordított korreláció észlelhető (76). Relapsusban alacsonyabb az antitest szint, de az IgG4 dominancia mellett magasabb gátlás mérhető (78). Az IgG1 és IgG3 alosztályú ellenanyag esetén a klinikai kép gyakran súlyosabb (76-78). Ugyancsak rossz prognosztikai tényezőnek találták a többféle isotípusú antitest kombinációt és a magas IgA titert is (75).

Az IgG4 típusú antitestek általában fehérje antigének ellen termelődnek hosszú stimulációt követően. Kevésbé képesek nagy immunkomplexek létrehozására. Emellett az egyéb alosztályokra jellemző Fc-dependens effektor funkciói is hiányoznak, nem képesek aktiválni a komplement rendszer klasszikus útját, nem vesznek részt a leukocyták toborzásában (76). Hatásukat az antigén lefedésével, blokkolásával fejtik ki (80).

Kimutatták, hogy az ADAMTS13 enzim nyitott konformációban kering a TTP aktív szakában (81). Ez a jelenség megtalálható remisszióban is <50% ADAMTS13 aktivitás esetén, de még az 50% feletti ADAMTS13 aktivitás tartományban is a betegek egy részénél kimutatható volt (81, 82). Munkacsoportunk is részt vett abban a vizsgálatban, mely igazolta, hogy a jelenség háttérében a betegek véréből izolálható, ún. „nyitó antitestek” állnak (82). Pre-emptív rituximab adását követően az ADAMTS13 aktivitás rendeződésével párhuzamosan az enzim zárt konformációt vett fel, ami igazolta az auto-antitestek oki szerepét (83).

Jelenleg még nem tisztázott, hogy az enzim ellenes antitest termelést pontosan mi okozza. Széles körben elfogadott, hogy az infekciók és a terhesség jelentik a TTP leggyakoribb triggereit. Mindkét klinikai állapotban tartósan megnő a keringésbe kerülő nagyobb VWF

multimerek mennyisége. Az ADAMTS13 enzim képes a keringésben lévő legnagyobb globuláris VWF-hoz kötődni és azzal komplexben keringeni (51, 84). Az enzim TSP7-CUB1 és a faktor D4CK szakaszok kapcsolódásának hatására az enzim nyitott konformációt ölt, melynek következtében a spacer domén rejtett antigénjei felszínre kerülnek. A szabadon keringő enzim ugyancsak nyílt konformációját eredményezik a korábban ismertetett ún. nyitó antitestek megjelenése is (81, 82). A fehérje konformáció változása okozta crypt-antigén expresszió ismert immunizáló tényező más autoimmun folyamatokban (APS, HIT), amelyekben a fehérje konformáció változása tehető felelőssé az autoimmun folyamat elindításáért (85, 86).

Más feltételezések szerint az enzim poszttranszlációs egyéb változásai - citrullináció, methionin oxidáció (87), glikoziláció (88) szintén szerepet játszhatnak az autoimmun folyamat elindításában.

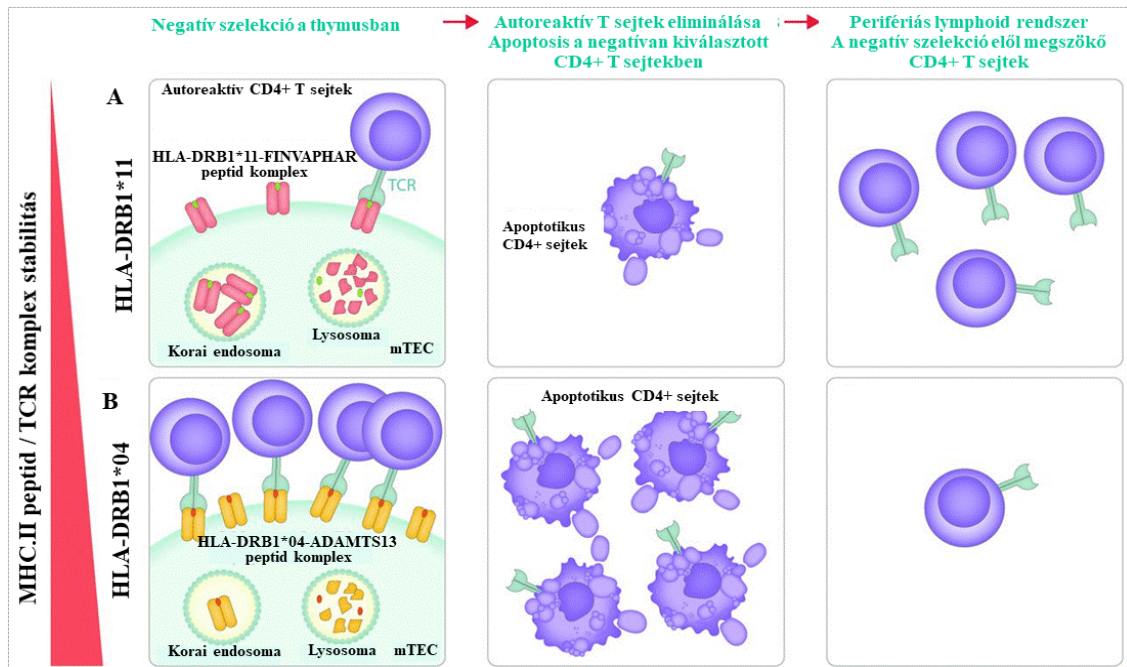
Számos autoimmun betegségben ismert HLA asszociáció, továbbá nem ritka a TTP és egyéb szisztémás autoimmun betegségek társulása sem (89, 90). Több munkacsoport pozitív összefüggést talált a TTP és a HLA-DRB1*11 (91-93), DQB1*02:02 (92, 93), HLA-DQB1*0301 allélok (91), ill. DQB1*03-DRB1*11 haplotípusok (91, 92) között, ill. protektívnek találták a DRB1*04/DR53 allél hordozását (91, 93, 94) a kaukázusi populációban. Saját munkacsoportunk a DRB1*11-DQB1*03 és a DRB1*15-DQB1*06 haplotípusokat rizikó tényezőként, míg a DRB1*07-DQB1*02 és a DRB1*13-DQB1*06 haplotípusokat védőfaktoroként azonosította a vizsgált hazai beteg populációban (95).

Ezzel szemben a japán TTP-s betegeknél a DRB1*08:03, DRB3/4/5*blank, DQA1*01:03 és a DQB1*06:01 fordult elő gyakrabban, a DRB1*15:01 és a DRB5*01:01 gyenge védelmet jelentett, továbbá a DRB1*11 and DRB1*04 alléloknak nem volt semmilyen hatása (96).

Egy rizikó allél hordozása nem jár feltétlenül együtt az autoimmun betegségek kialakulásával, továbbá ugyanaz az allél/haplotípus előfordulhat több kórképben, de akár eltérően - rizikó vagy védő faktorként - is viselkedhet különböző betegségekben (97). Ez felveti a környezeti tényezők jelentős módosító szerepét.

Az MHC-II molekula készlet szabja meg, hogy antigén prezentáló sejtjeink milyen hatékonyan képesek a fehérjetermészetű antigének peptidjeit prezentálni a CD4+ T helper lymphocyták felé. Amennyiben ez a peptid prezentálás nem megfelelő, akkor sérülhet az autoreaktív sejtek eltávolítását célzó negatív szelekció a centrális tolerancia kialakulása

során. Az elképzelések szerint az autoantitestek létrejöttéhez a negatív szelekció alól megszökő, alacsony-közepes affinitású CD4⁺ helper lymphocyták túlélése és aktiválása szükséges (4. ábra).



4. ábra: Az MHC-II stabilitásának lehetséges szerepe az autoimmun TTP kialakulásában (98). **(A)** Az instabil HLA-DRB1*11 molekulák gyorsan endocitizálódnak, ami korlátozza a HLA-DRB1*11-tel töltött peptidok bemutatását a medullaris thymus epithelialis sejteken (mTEC) a CD4⁺ T sejtek felé. A HLA-DRB1*11/peptid komplexek feltételezett instabilitása miatt az autoreaktív CD4⁺ T-sejtek eltávolítása (apoptosis útján) csökken a thymusban és potenciális autoreaktív sejtek jelennek meg a perifériás lymphoid rendszerben. **(B)** A stabil HLA-DRB1*04 molekulák hosszú ideig megmaradnak az mTEC felszínén, ezáltal az autoreaktív CD4⁺ T-sejtek eltávolítása hatékony lesz. Következésképpen a thymusban a negatív szelekció elől megszökő autoreaktív CD4⁺ T-sejtek száma nagyon alacsony lesz, ami a HLA-DRB1*04 védő szerepét magyarázhatja az iTTP kialakulásában. Az ábra a (98) referencia alapján készült.

Jól ismert, hogy a legkülönbözőbb infekciók „molekuláris mimicry” útján képesek autoimmun folyamatokat elindítani. Ennek során a saját és az idegen peptidek közötti

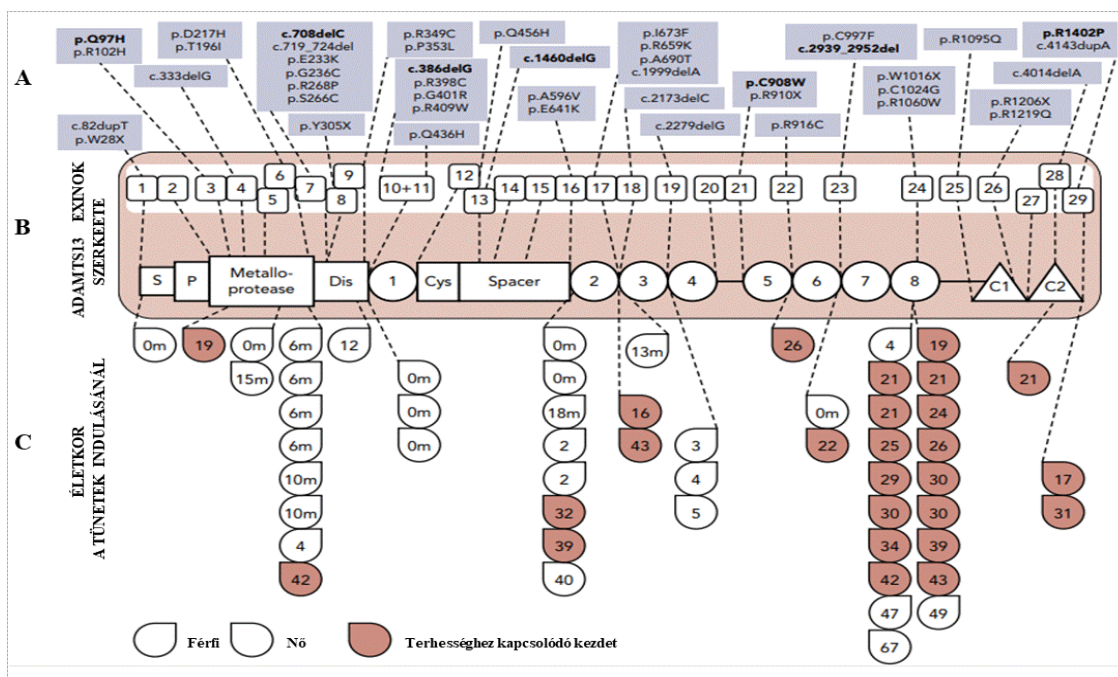
hasonlóság miatt keresztreakáló autoreaktív sejtek aktiválása jöhet létre (99). Másfelől az infekciós ágensek az antigén prezentáló sejteket a patogén-asszociált mintázat felismerő receptorokon keresztül triggerelve az MHC struktúrák upregulációját idézik elő, ami a saját peptidek fokozott bemutatását segíti elő, amely már képes lehet az alacsony-közepes affinitású autoreaktív sejtek aktiválására, vagyis a perifériás tolerancia áttörésére (100). Bár az infekciók provokáló szerepe az autoimmun betegségek kiváltásában jól ismert, mégis kizárólag a C. jejuni infectio és a Guillain Barré syndroma között sikerült közvetlen ok-okozati összefüggést eddig igazolni (100). Ezért az elmúlt évtizedben a mikrobiomra terelődött a figyelem. Számos betegségben merült fel a bél microbiota szerepe a betegség kialakulásában (101), emellett újabban összefüggést találtak a HLA antigének és a bél microbiota között (102) is. Ezért nem meglepő, hogy a microbiota szerepét a TTP-ben is felvetették (100).

Az egyéb hajlamosító tényezők közül kiemelhető az életkori sajátosságok mellett a női nem, mely hormonális hatásokra utal. Az oestrogen nem csak a TTP, hanem más autoimmun (pl. SLE) betegségek kialakulását is segíti az autoreaktív B-sejtek túlélésének növelése által (103).

1.1.3.3 A deficiens ADAMTS13 enzim aktivitás veleszületett, genetikai formája

Az ADAMTS13 deficiencia hátterében genetikai tényezők is állhatnak. A kórképet első leírójukról (2, 3) Upshaw-Schulman szindrómának (USS) nevezték el.

A kórkép örökletes jellegét 1975-ben vetették fel először (104). Az öröklésmenet autoszóm recesszív. A mutációk egyharmada homozygota, kétharmada compound heterozygota mutáció. A patomechanizmus tisztázása előtt ezt a formát „krónikus relabáló/ciklikus” TTP-nek hívták. A pontos incidencia és prevalencia nem tisztázott, abban azonban egyetértés van, hogy jóval ritkább, mint a szerzett, autoimmun forma. Hazánkban eddig mindössze néhány betegnél lehetett mutációt igazolni (105).



5. ábra: ADAMTS13 mutációk cTTP-ben (106). A betegséget okozó mutációk az ADAMTS13 gén teljes hosszában megtalálhatók. Az ADAMTS13 fehérje szerkezete a diagram közepén található színes dobozban látható az azt kódoló ADAMTS13 gént alkotó 29 exonnal együtt. E felett a diagram felső harmadában az összes az exonokhoz kapcsolódó, eddig megismert ADAMTS13 mutációk látható, az új mutációkat félkövéren jelölve. Az alsó harmadban pedig a tünetek megjelenésének ideje (m=month, hónap; ahol csak szám van, az évet jelent) a mutáció helye szerint. A színes cseppek a terhesség alatt jelentkezőket jelölik. Az ábra csak az egy exonra korlátozó mutációkat tartalmazza. Rövidítések: S: szignálpeptid, P: propeptid, Dis: disintegrin-szerű domén, Cys: ciszteinben gazdag domén, az arab számok a thrombospondin doméneket jelölik, C1 és C2: 1-es és 2-es CUB domének, m: hónap (month). Az ábra a (106) referencia alapján készült.

Eddig több, mint 150 féle mutációt találtak az ADAMTS13 gén területén (106). Frameshift, missense vagy nonsense mutációk egyaránt előfordulnak, az ADAMTS13 gén teljes területe érintett (**5. ábra**). Azonban a mutáció lokalizációja és az életkori megjelenés között szoros összefüggés van. Míg a prespacer homozygota mutációknál az életkor az első klinikai megjelenésnél 24 hónap, addig a postspacer homozygota mutációk esetében ez 294 hónap. Heterozygotáknál a kezdet inkább a felnőttkor felé tolódik el. Bár

a női/férfi arány nem különbözik a szerzett formától, a férfiak 86%-nál a kórkép gyermekkorban indul, míg a nők 61%-nál a terhesség során jelenik meg először (106). A terhességhez kötött mutációk halmozottan a 24-es exont érintik (**5. ábra**). Ennek megfelelően korai és késői kezdetű klinikai formák ismertek. A korai indulási forma általában sokkal súlyosabb.

1.1.4 Klinikai tünetek

A TTP klinikuma nagyon színes, a microthrombosisok okozta ischaemia lokalizációjától függően sokféle kórképet utánozhat. A betegség általában viszonylag hirtelen kezdődik, típusos prodromális fázis nélkül. A betegség „kirobbanását” megelőző 1-2 hétben azonban előfordulhat szokatlanul erős vagy visszatérő fejfájás, ismétlődő TIA, hasi görcsök, flu-like tünetek, általános rossz közérzet, gyengeség, elhúzódó menses.

a) Hematológiai tünetek:

Thrombocytopenia: általában súlyos, jellemzően 30 G/L alatti (107). Azonban még egy számjegyű thrombocytopenia esetén is ritka a súlyos vérzés: leggyakrabban a bőrön és a nyálkahártyákon látható purpura, petechia; a gastrointestinalis, nőgyógyászati, szemfenéki vagy egyéb vérzés ritkaság. Előfordul, hogy a nagyon alacsony thrombocytaszám ellenére semmilyen vérzéses tünet sem észlelhető.

Az **intravascularis haemolysis** tünetei: icterus nincs, vagy csak enyhe, a serum bilirubin ritkán emelkedik 100 $\mu\text{mol/l}$ felé, a vizelet a haemoglobinuria miatt burgundi-barna. Ehhez a változó mértékű anamia tünetei társulhatnak. A kórkép ritkán indulhat ITP-hez hasonlóan, ilyenkor az anaemia és esetleg a fragmentocytosis is csak napokkal később jelenik meg, de saját beteganyagunkban szerepel olyan beteg is, akinek váltakozva jelentkeztek ITP /Evans (Coombs negatív) / TTP – s tüneteket mutató epizódjai.

b) Neurológiai tünetek: Az esetek 70-80 %-ban észlelhetők. Gyakori és jellegzetes a heves fejfájás (bevezető és maradvány tünetként is előfordul) és a fluktuáló tudatzavar, gyakran észlelhető aphasia, góctünetek és görcsök is előfordulhatnak (108). A tünetek gyakran „mozognak” és sokszor nem köthetők egy góchoz. Előfordul, hogy a betegség típusos stroke tünetekkel indul, mely a diagnózist

átmenetileg más irányba terelheti (109, 110). Az esetek egy részében kialakuló kóma miatt a betegek több mint 10%-a szorul gépi lélegeztetésre.

- c) Gastrointestinalis tünetek: Az epigastriális fájdalom, hányinger, hányás gyakori tünet, a hasmenés ritka. A pancreatitis kiváltó okként (111) és szövődményként (112) egyaránt előfordul. Szerencsére ritka klinikai megjelenés az ischaemiás colitis (113).
- d) Vesetünetek: A kóros vizeletlelet (proteinuria, mikroszkópos haematuria, haemoglobinuria) nagyon gyakori, de a vizeleteltérés hiányozhat vagy akut tubuláris nekrozist utánozhat. Egy francia munkacsoport adatai alapján az ADAMTS13 deficiens betegek döntő többségének az induló kreatinin értéke <200 micromol/L (107). Az akut vesekárosodás (AKI) mértékére és dinamikájára a kreatinin emelkedés, illetve a diuresis alakulása adhat támpontot. Ritka az AKI 3. stádium (failure) bekövetkezése.
- e) Cardiovascularis tünetek: Szívelégtelenség, ritmuszavar, akut myocardialis infarctus (STEMI és non-STEMI), hypertonia bár nem gyakoriak, előfordulhatnak. A hirtelen halál hátterében gyakran malignus ritmuszavar vagy myocardialis infarctus áll (114).
- f) Láz: A pentád része, nem fertőzőes eredetű. Láz esetén az esetleges fertőzést azonban mindig fel kell kutatni és kezelni kell, mert szerepe lehet a kórkép kiváltásában és fenntartásában is. Számos infekció járhat TTP-like klinikai tünetekkel. Az ADAMTS13 vizsgálat nagyon fontos, mert ettől nagyban függ a terápia. A nem deficiens eredmény a secunder forma mellett szól (115).
- g) Egyéb tünetek: A TTP az egész szervezetre kiterjedő folyamat, ezért bármely szerv érintett lehet, a máj (elsődlegesen a máj termeli az ADAMTS13 enzimet) és a tüdő azonban többnyire megkímélt.

A TTP diagnózisa nem mindig egyszerű. Egyes esetekben a tünetek sokszínűsége, máskor éppen ellenkezőleg, a tünetszegény megjelenés, ITP-re, Evans szindrómára (ITP és autoimmun haemolyticus anaemia együtt) emlékeztető klinikai kép lehet félrevezető. Atípusos kezdet (stroke, myocardialis infarctus, „akut has” stb.) sajnos gyakran más irányban viheti el a diagnózist, a diagnosztikus késlekedés könnyen a beteg életébe kerülhet. A mono-, oligosymptomás megjelenés pedig különösen a genetikai forma „late onset” típusára jellemző gyermekkorban: a tünetek szerények, ITP-re vagy Coombs

negatív Evans szindrómára emlékeztetnek és a jellegzetes klinikai kép csak évekkel később bontakozik ki teljes mértékben a terhesség során (106).

1.1.5 Diagnózis

A TTP klinikai diagnózisának felállításához a más okkal nem magyarázható consumptió, thrombocytopenia és a fragmentocytás haemolyticus anaemia (diád) igazolása elegendő.

3. táblázat: A TTP klinikai diagnózisának megállapításához és az azonnali kezelés megkezdéséhez szükséges, sürgősséggel elvégzendő vizsgálatok (116)

A diagnózishoz szükséges	TTP-re jellemző érték
Direkt Coombs teszt	negatív
Teljes vércép	thrombocytopenia (TTP <30 G/l), anaemia, reticulocytosis
Perifériás kenet	fragmentocytosis ± magvas vörösvérsejtek, spherocyták, polychromasia basophil pettyezettség
Serum haptoglobin	alacsony/mérhetetlenül alacsony
Serum indirekt bilirubin	normális/enyhén kóros/ritkán emelkedett
Laktát-dehidrogenáz (LDH)	magas (leggyakrabban 1000-5000 IU/l)
Transzaminázok	normális/enyhén kóros
Szűrő coagulogram (PT, APTI, fibrinogén)	normális / enyhén kóros
Kreatinin emelkedés	TTP: gyakran mérsékelt: kreatinin < 200 micromol/L
Troponin	normális/változó mértékű emelkedés
C-reaktív protein (CRP)	normális / enyhén kóros
Procalcitonin	normális / enyhén kóros (veseelégtelenség: magas)
Teljes vizelet	változó mértékű haemoglobinuria, proteinuria, (micro)haematuria
A táblázat a (116) referencia alapján készült.	

Az ehhez javasolt minimálisan elvégzendő labor vizsgálatokat (116) és azok jellegzetes eredményeit a **3. táblázat**-ban foglaltam össze.

4. táblázat: a PLASMIC score (118) és a FRENCH score (107)		
Labor vizsgálat	PLASMIC score	FRENCH score
Thrombocytaszám	<30 G/L (+1)	<30 G/L (+1)
Serum kreatinin szint	<176,84 µmol/L (+1)	<199,83 µmol/L (+1)
Haemolysis jele (a következők közül legalább 1 jelenléte) – indirekt bilirubin >34,2 µmol/L – reticulocytaszám >2,5% – nem detektálható haptoglobin	(+1)	megléte alapkritérium
Nincs aktív tumor az anamnesisében	(+1)	megléte alapkritérium
Nincs szolid szerv vagy összejt transzplantáció az anamnesisben	(+1)	megléte alapkritérium
INR <1,5	(+1)	megléte alapkritérium
MCV <90 fL	(+1)	
ÉRTÉKELÉS	PLASMIC score	FRENCH score
10% alatti ADAMTS13 aktivitás valószínűsége:	0-4 pont: 0-4% 5 pont: 5-24% 6-7 pont: 62-82%	0 pont: 2% 1 pont: 70% 2 pont: 94%
<p>PLASMIC SCORE: Minden tételre 1 pont (+1) adható, az összpontszám alapján jósolható meg az ADAMTS13 deficiencia valószínűsége.</p> <p>FRENCH SCORE: TMA-ban akkor használható, ha a fragmentocytás haemolysis mellett nem szerepel az anamnesisben tumor, transzplantáció és nem igazolható disszeminált intravasculáris coagulatio. Ezek alapkritériumok és külön pont ezekre a French scorban nem jár. Az alapkritériumok teljesülése esetén a thrombocytaszám és a kreatinin érték alapján határozzuk meg az ADAMTS13 deficiencia valószínűségét. A French score eredetileg az antinukleáris factort is tartalmazta. Az MCV a French scoreban nem szerepel.</p> <p>Rövidítések: INR: nemzetközi normalizált arány; MCV: átlagos corpusculáris érték</p> <p>A táblázat a (107) és (118) referenciák alapján készült.</p>		

5. táblázat: A TTP differenciál-diagnózisához és a célzott terápia kiválasztásához szükséges vizsgálatok (119)

A TTP differenciáldiagnózishoz és a terápia megválasztásához szükséges vizsgálatok	Megjegyzés
Terhességi teszt	Szülőképes korú nők esetében
Viroológia (HIV, hepatitis A/B/C/E, CMV, EBV, +/- egyéb)	A terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és elküldeni a laboratóriumba
Szűrővizsgálat autoimmun betegség irányában (RF, ANA, dsDNA, ENA szűrés, C3, C4, lupus antikoaguláns, antifoszfolipid antitestek, Akut vesekárosodás esetén: ANCA, anti-GBM is	A terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és elküldeni a laboratóriumba
ADAMTS13 aktivitás, antigén, inhibitor, genetika	A terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és a szaklaboratórium előírása szerint tárolni vagy elküldeni a laboratóriumba
Kobalamin anyagcsere vizsgálata (plazma homocisztein, plazma + vizelet metilmalonsav, B12-vitamin szint, genetika)	Gyermekeknél mindig, fiatal felnőtteknél hyperhomocysteinaemia esetén javasolt elvégzése
Komplement szűrővizsgálat + komplement-genetika + áramlási cytometria (CD46)	Veseérintettség* tünete esetén
Széklet tenyésztés + verotoxin PCR	Veseérintettség* + hasmenés a kórkép jelentkezésekor vagy az azt közvetlenül megelőző 1-2 hétben
<p>* RIFLE kritériumok szerint (120):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Risk: szérum kreatinin 1.5x-es emelkedése, vagy GFR csökkenés >25%, vagy óradiurézis <0,5 mL/kg/óra 6 órán keresztül, - Injury: szérum kreatinin 2x-es emelkedése, vagy GFR csökkenés >50%, vagy óradiurézis <0,5 mL/kg/óra 12 órán keresztül, - Failure: szérum kreatinin 3x-os emelkedése, vagy GFR csökkenés >75%, vagy szérum kreatinin >353 mikromol/l akut emelkedéssel (>44 mikromol/l), vagy óradiurézis <0,3 mL/kg/óra 24 órán keresztül, vagy anúria 12 órán keresztül - Loss: tartós akut veseelégtelenség = vesefunkció teljes elvesztése >4 hét - ESRD: End stage kidney disease (>3 hónap) 	
A táblázat a (119) referencia alapján készült.	

Ma már egyre szélesebb körben elfogadott, hogy a TMA-knak csak az ADAMTS13 deficiencián alapuló formáját nevezik TTP-nek (117). Ezért a klinikai diagnózis megerősítésére ma már elengedhetetlen az ADAMTS13 enzimaktivitás és inhibitor vizsgálat elvégzése.

A klinikai diagnózist segíti a FRENCH (107) és/vagy a PLASMIC score (118) alkalmazása (**4. táblázat**). A két score rendszer között egyetlen érdemi különbség van, az MCV-t csak a PLASMIC score tartalmazza. Mindaz, ami alap kritérium a FRENCH score-ban, arra külön pont jár a PLASMIC score-ban. Magunk a FRENCH score-t használjuk az egyszerűsége miatt.

A differenciáldiagnosztikához (119) szükséges labor vizsgálatokat az **5. táblázat**, a legfontosabb kizárandó kórképeket pedig a **6. táblázat**-ban foglaltam össze.

Felnőtt betegeknél a secunder TMA csoport elkülönítése a legnehezebb feladat. Egyes secunder TMA-khoz társulhat ADAMTS13 inhibitor (pl, SLE, ticlopidin, interferon, HIV, stb), ezért ez utóbbi kórképekben is elengedhetetlen az enzimaktivitás meghatározása.

6. táblázat: A TTP differenciáldiagnózisa során kizárandó legfontosabb kórképek (119)

Immunthrombocytopenia

Autoimmun haemolyticus anaemia

Evans-syndroma (autoimmun haemolyticus anaemia és thrombocytopaenia)

Disszeminált intravasculáris coagulatio

Haemolyticus uraemiás syndroma

(Pre)eclampsia, HELLP syndroma

B₁₂-vitamin hiány (felnőtt)

Secunder thromboticus microangiopathiák

Thrombocytopenia és/vagy haemolysis egyéb okai

A táblázat a (119) referencia alapján készült.

Az occult infekciók felderítése nagyon fontos, mert megfelelő kezelés nélkül terápia rezisztenciát okozhatnak (121, 122).

Saját betegeink között többször talákoztunk B12 hiányhoz társuló TTP-like tünetekkel (123), ahol az ADAMTS13 aktivitás eredménye kizárta a TTP-t, ezért a B12 szint mérése saját protokollunkban az első vonalú szűrővizsgálatok között szerepel.

1.1.6 Terápia

A kórkép első leírását követő évtizedekben a TTP csaknem mindig halálos kimenetelű volt számos terápiás próbálkozás (adrenocorticotropin, corticosteroid, azathioprin, mustár nitrogén, dipyridamole, aspirin, heparin, streptokinase, splenectomia) ellenére (124). Az első sikeres, friss teljes vérrrel történt vércserét Rubinstein végezte 1959-ben (125), majd ezt az eredményt később mások is reprodukálni tudták (126). Nem volt világos ugyanakkor, hogy a friss vér mely komponense felelős a terápiás eredményért. 1977-ben Byrnes és Khurana egy corticosteroid, splenectomia és antithrombocytá terápia refrakter 18 éves lánynak sorozat transzfúziót adtak. Hatékonyak találták a friss vérrrel történt vércserén kívül a friss plazma, a friss fagyasztott plazma, a tárolt plazma, valamint a kryofelülűszo plazma transzfúzióját, míg a vörösvérsejt koncentrátum és a mosott vörösvérsejt+albuminnal történt vércsere hatástalannak bizonyult. Ebből arra következtettek, hogy a plazmában kell legyen egy hiányzó, meglehetősen stabil faktor, melynek pótlásával a kórkép meggyógyítható (127).

Ugyanebben az évben megtörtént az első gépi plazmacsere friss plazma szubsztitúcióval (128). A kezelés mindkét betegnél eredményes volt. A szerzők azt feltételezték, hogy valamilyen toxikus anyag (antitest vagy immuncomplex) eltávolítása lehetett a siker oka. Mivel a gépi apheresis technikailag egyszerűbb volt, mint a manuális vércsere, a plazmacsere rohamosan terjedt az elkövetkező években.

A korábbiakhoz képest az empirikus plazma terápia drámaian pozitív változást hozott a TTP kezelésében, az addig halálos betegség jelentős mértékben gyógyíthatóvá vált.

1991-ben a Kanadai Apheresis Társaság munkacsoportja közölte az első prospektív, randomizált vizsgálat eredményét (129), melyben az FFP-vel végzett plazmacsere hatékonyságát a FFP transzfúzióval összehasonlítva szignifikánsan hatékonyabbnak (6 hónapnál 78% vs. 50%) találták. Az eredményt egy francia szerző randomizált adatai is megerősítették (130). Ettől kezdve a plazmacsere a TTP bázisterápiájává vált.

A 1990-es évek végén a patomechanizmus tisztázása világossá tette az empirikus plazmaterápia sikerét és az FFP-vel végzett plazmacsere nagyobb hatékonyságát. Az immunmechanizmus felderítésével pedig az addig szórványosan használt immunszuppresszív kezelés is értelmet nyert.

Az évtizedek óta használt kezelési stratégia az alábbi:

1.1.6.1 Plazmaterápia

A TTP alapos gyanúja (French score 2) esetén a plazmacserét lehetőleg azonnal, de legkésőbb 8 órán belül el kell kezdeni (116). A kezelés indulásakor a plazmacsere (PEX) intenzitása 1,5 plazmavolumen (normál haematokrit esetén kb. 60 mL/kg) naponta, melyet napi 1 plazmavolumenre lehet csökkenteni az állapot stabilizálódásakor. A PEX akkor függeszthető fel, ha a thrombocytaszám 2 egymást követő nap a normál tartományban (>150 G/L) van és haemolysis jel nem észlelhető. Kritikus állapotú betegeknél a nemzetközi irodalom napi 2 plazmacserét javasol (116, 131). Mivel ezt a NEAK jelenleg nem finanszírozza, ezért helyette két plazmacsere között szubsztitúciós dózisu (10-15 ml/kg) FFP-t adunk (129, 130). Ugyancsak a plazma transzfúzió az átmenetileg választandó kezelés stratégia, ha a PEX bármely ok miatt azonnal nem elérhető (129, 130). Ez esetben a javasolt napi FFP dózis 25-30 mL/kg (132).

A javasolt szubsztitúciós folyadék friss fagyasztott plazma (FFP) vagy kryofelülúszó, mivel mindkettő normál aktivitású ADAMTS13 enzimet tartalmaz (133). A jelentős donor expositio miatt a nemzetközi gyakorlat ma már a patogén inaktivált plazma termék használata (116). Ehhez külföldön többféle termék áll rendelkezésre (solvens-detergens (SD), metilénkék, amotosalen-UVA, riboflavin UV). Hazánkban az SD plazma és riboflavin UV plazma érhető el. Az utóbbival TTP-ben még nincs tapasztalat.

A TTP genetikai formájában PEX általában nem szükséges, elegendő a plazma transzfúzió. Ennek dózisa 10-15 mL/kg, 1-3 hetente ismételve a tünetektől függően. Cél a thrombocytaszám normál tartományban történő tartása. Terhesség esetén adott prophylacticus plazmaterápia javítja a magzat és anya életkilátásait (134). Normál vérkép paraméterek esetén is szóba jöhet a plazma prophylaxis, ha a klinikai tünetek vagy az egyéb labor eltérések a folyamat szubklinikai aktivitását jelzik. E mellett szól, ha a betegnél ismétlődő fejfájások, letargia, hasi görcsök észlelhetők és ezek plazmaterápiára jól reagálnak és/vagy a szervkárosodási markerek és a vizelet protein/kreatinin hányados

emelkedik (106). Mivel a prophylacticus plazmaterápia csökkenti a cerebrovascularis incidensek előfordulását, ezért alkalmazása a teljesen tünetmentes betegek esetén is szóba jöhet (106). Plazma intolerancia esetén alternatív lehetőség lehet az ADAMTS13 aktivitással rendelkező VIII-as faktor készítmények. Ezek változó enzimaktivitása miatt újabban kevésbé javasolják a használatukat (135).

1.1.6.2 Immunszuppresszív kezelés

Az autoimmun formában csökkenti a plazmacserével eltávolított inhibitor újra termelődését. Ezért minél gyorsabban célszerű elkezdni. Többféle szer használatos.

- a) *Corticosteroidok*: a legrégebben használt szer (136), dózisa az 1mg/kg/nap és a pulzus lökéskezelés (1 g/nap 3 napon át) között változhat (137). Az optimális dózis nem ismert. Orális formára való áttéréskor inkább a prednisolon adását javasolják. A dóziscsökkentés terén nincs egységes vélemény, egyesek a gyors (138), míg mások az óvatos elhagyást javasolják (139), magunk az utóbbit alkalmazzuk.
- b) *Rituximab*: anti-CD20 ellenes monoklonális antitest, mely az antitest termelő B lymphocytákat teszi tönkre. Bár off label terápia, ma már a standard terápia része. Korábban csak a rezisztens esetekre, ma már egyre inkább up front (az első 3 napon belül) használják (140-142). A standard dózis a 375mg/m². Sokan alkalmazznak fix dózist, mely igen széles tartományban (100mg-1000mg) változik. A kis dózisú rituximab (100 mg hetente 1-szer, 4 héten át) hatékonyságát több friss vizsgálat is alátámasztja (143-145), magunk ez utóbbit alkalmazzuk. A rituximab és a PEX között legalább 4 órának kell eltelnie (140). Terhességben nem adható. Vírus reaktivációt okozhat, ezért fontos a HBV/HCV status tisztázása (146, 147), pozitívitás esetén infektológiai konzilium, antivirális terápia szükséges. Hatása kb 12 nap alatt fejlődik ki és a B sejt depléción kb. 9 hónap alatt szűnik meg, ezáltal sem a korai, sem az 1 éven túli halálozásra nincs hatással (142).
- c) *Cyclophosphamid*: autoimmun betegségekben gyakran és régóta használt gyógyszer. TTP-ben kevés a közölt adat. Adható egyetlen 500 mg-os infúzió formájában (139) vagy akár up front pulzus terápiaiban (400 mg/m² 3 hetente 6 alkalommal). Ez utóbbit az up front rituximabbal egyenértékűnek találták kis esetszámú vizsgálatban (148).

- d) *Egyéb immunszuppresszív szerek:* azathioprin, vincristin, cyclosporin, mycophenolat mofetil, bortezomib alkalmazásáról szórványos adatok vannak.

1.1.6.3 A von Willebrand faktor és a thrombocyta interakció gátlása

Több kísérleti szer közül a caplacizumabot a közelmúltban „orphan drug”-ként törzskönyvezték TTP-ben. A caplacizumab egy nanobody, mely azonnal hatékony, de tüneti kezelés. A VWF A1 domain GPIIb kötőhelyének lefedésével meggátolja a thrombocyta microthrombus-képződést, ezáltal megelőzi a microthrombosis okozta szervi ischaemiából származó halált. Hatékonyágát 2 prospektív, kontrollált vizsgálat igazolta (149, 150). Szignifikánsan csökkenti a remisszióba kerülési időt, a szükséges plazmacsere számot, a kórházi ápolási időt, a refrakter esetek számát és a halálozást (151). Az autoimmun folyamatra nincs hatása, ezért immunszuppresszív kezeléssel való kombinálása nagyon fontos (142). Elvi megfontolások alapján az azonnali alkalmazástól lenne várható a legtöbb haszon. Adása akkor kezdhető, ha ADAMTS13 aktivitás mérésére (eredmény optimálisan 3 napon belül, legkésőbb 7 napon belül) van lehetőség (152). A kezelés folytatása $\leq 10\%$ aktivitás igazolódása esetén indokolt. Az Alkalmazási előírat a szer adását a PEX elhagyását követően további 30 napig javasolja alkalmazni. „Real word” adatok szerint, az ADAMTS13 aktivitás 10% fölé emelkedését követően a szer biztonsággal elhagyható (153), továbbá, a kezelés plazmacsere nélkül is eredményes lehet (154). Jelenleg az ára jelenti alkalmazásának legnagyobb akadályát.

1.1.6.4 Thrombocytafunkció-gátló szerek

Leggyakrabban használt szer a kis dózisú aspirin. A régi irodalomban gyakran kombinálták dipyridamollal. A klinikai gyakorlatban széles körben használt, de klinikai vizsgálatokban kevésbé tesztelt gyógyszer (155), általában 50 G/L feletti thrombocyta tartományban alkalmazzák. A thienopyridinek (156) ritkán önmagukban is okozhatnak TTP-t. Egyéb indikációval adott ticlopidin esetében 0,01-0,02 % a TTP gyakorisága, általában a terápia első 2-12 hetében PEX-re jól reagáló ADAMTS13 inhibitoros TTP-t indukálhat. A clopidogrel esetében ez a szövődmény jóval ritkább (0,0001%): a kezelés indítását követő 2 héten belül, akut vesekárosodással járó TMA formájában jelentkezik. ADAMTS13 inhibitor többnyire nincs és a kórkép PEX-re általában refrakter. A prasugrelről még nincs kellő adat. Ezért ticlopidin biztosan kerülendő, de a clopidogrel

és a prasugrel egyéb vascularis indikáció esetén, a haszon/kockázat gondos mérlegelését követően adhatók.

1.1.6.5 Splenectomy

Ma már sokan korszerűtlen terápiának tekintik. Azonban tartós immunszuppresszív kezelés mellett is visszaeső betegeknél mind a mai napig egy reális alternatíva lehet (157). Fontos azonban, hogy csak stabil remisszióban, tokos bakteriumok elleni vakcinációt követően kerüljön rá sor. Nem garantálja a teljes relapsus mentességet, de azok gyakoriságát egyértelműen csökkenti.

1.1.7 Prognózis, hosszútávú eredmények

Az alacsonyan maradó vagy visszacsökkenő ADAMTS13 aktivitás a későbbi stroke kockázatát a többszörösére növeli (158), ezért ma már törekedni kell az ADAMTS13 aktivitás lehetőség szerinti minél jobb rendezésére. Bár a plazmacsere a TTP-s betegek sorsát alapvetően megváltoztatta és a szinte biztosan halálos kimenetelű betegséget jelentős arányban gyógyíthatóvá alakította, mind a mai napig a betegek 5-20 %-t veszítjük el az akut fázisban, mely az elmúlt évtizedekben a legtöbb centrumban alig változott. A betegek közel egyharmadának-felének lesz az életében legalább 1 relapsusa (159-165). Bár a relapsusok általában enyhébbek, mint az első epizód, ez nincs mindig így. A folyamat aktiválódása a beteg számára mindig akut életveszélyt jelent, mivel a kimenetel soha nem garantálható előre, még enyhének induló epizódok esetén sem (saját nem közölt adatok). Ezért egyre inkább javasolható az ADAMTS13 aktivitási eredmény vezérelt, remisszióban adott preemptív rituximab vagy egyéb immunszuppresszív terápia (83, 145, 166-168) a relapsus és a későbbi stroke megelőzése céljából.

1.1.8 Standardizált terminológia

A különböző klinikai vizsgálatok adatainak összehasonlíthatósága érdekében a TTP-vel kapcsolatos terminológiát 2017-ben standardizálták (117). A caplacizumab terápiás bevezetése a nevezéktan módosítását tette szükségessé (169). Jelenleg az alábbi terminológia használatos:

- a) Klinikai válasz: fenntartott 150 G/L feletti thrombocytaszám, a felső normálérték másfélszeresét nem meghaladó LDH érték, új vagy progresszív ischaemiás szervkárosodás klinikai tünete nélkül.

- b) Klinikai remisszió: fenntartott klinikai válasz plazmacsere és anti-VWF kezelés nélkül: legalább 30 napig vagy ADAMTS13 remisszió (részleges vagy teljes) elérése esetén, amelyik hamarabb következik be.
- c) Részleges ADAMTS13 remisszió: Az ADAMTS13 aktivitás 20% vagy annál magasabb, de nem éri el a normál tartomány alsó értékét.
- d) Teljes ADAMTS13 remisszió: Az ADAMTS13 aktivitás meghaladja a normál tartomány alsó értékét.
- e) Klinikai exacerbatio: klinikai válasz elérése után, de még a klinikai remisszió elérése előtt 150 G/L alá visszacsökkenő thrombocytaszám (egyéb ok kizárható) új vagy progresszív ischaemiás szervkárosodás tünetével vagy nélküle, a plazmacsere vagy az anti-VWF terápia befejezését követő 30 napos időszakon belül.
- f) Klinikai relapsus: Klinikai remissziót követően újra 150 G/L alá visszacsökkenő thrombocytaszám (egyéb okok kizárhatók) új ischaemiás szervkárosodás tünetével vagy nélküle. A klinikai relapsust a súlyos ADAMTS13 deficiencia igazolásával kell alátámasztani.
- g) ADAMTS13 relapsus: részleges vagy teljes ADAMTS13 remissziót követően újra 20 % alá csökkenő ADAMTS13 aktivitás.
- h) Refrakter TTP: Perzisztáló thrombocytopenia (<50 G/L) és LDH emelkedés (>1.5 felső normálérték) 5 plazmacsere és immunszuppresszív terápia ellenére.

2 CÉLKITŰZÉSEK

A doktori disszertáció az alábbi kollaborációs kutatások eredményeire épül:

1. Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával.
2. A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.
3. TTP remissziójában mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

2.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával

A Semmelweis Orvostudományi Egyetem későbbi Füst György Komplement Diagnosztikai Laboratóriumában kb. 2007 után indult el a komplement diagnosztika mellett az ADAMTS13 aktivitás mérése is. Innentől kezdve a TTP-HUS gyanú esetében a betegek mintáját a diagnózis tisztázása és a terápia nyomonkövetése céljából ebbe a laboratóriumba küldtük.

A patomechanizmus tisztázása előtt a TTP-t és a HUS-t a klinikai és labor tünetek alapján nem lehetett biztonsággal szétválasztani (170). Az egy kórkép teóriát erősítette, hogy az empirikus plazmaterápia mind a két kórképben hatékonynak bizonyult (2, 3, 6, 7).

A patomechanizmus tisztázásával TTP-ben az ADAMTS13 deficiencia, az atípusos HUS-ban pedig a komplement alternatív úti diszreguláció lett a fő mechanizmus. A két kórképet azonban továbbra is összekötötte az endothel károsodás és az a tény, hogy mindkét kórkép klinikai manifesztációját gyakran ugyanazok a trigger hatások, leggyakrabban infekciók előzik meg (170, 171). Az infekciók és a komplement aktiváció közötti kapcsolat régóta ismert volt. A TTP és HUS közötti klinikai és laboratóriumi eltérések jelentős átfedése miatt feltételezhető volt, hogy a komplement aktiváció az ADAMTS13 mechanizmusú TMA-ban is szerepet játszik. Ezt támasztotta alá, hogy thrombocytá-asszociált C3-ról (172) és alacsony C3-szintről (173) számoltak be TTP-s betegeknél.

Fentiek miatt feltételezhető volt, hogy a komplement aktiváció az ADAMTS13 inhibitoros TTP-ben is hozzájárul a microvascularis folyamat kialakulásához. Nem volt ismert ugyanakkor, hogy ennek pontosan mi a mechanizmusa és mi történik a komplement aktivációval a terápia hatására. Ezért célul tűztük ki, hogy:

- a) Megvizsgáljuk a komplement aktivációt a plazmacsere előtt, alatt, után és a remisszióban,
- b) Megvizsgáljuk, hogy az ADAMTS13 inhibitor perzisztálása hatással van-e a komplement aktivációra a plazmacserét követő remisszióban.

2.2 A TTP-HUS ellátás segítségét célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.

Az Irányelv fejlesztését a Transzfuziológia és Hematológia Tagozat kezdeményezte az alábbi céllal:

- a) A kutatási eredmények közvetlen átültetése a gyakorlatba, a klinikai ellátást segítő, hazai körülményekre adaptált ajánlások megfogalmazásával.
- b) A korszerű terápia, az ADAMTS13 aktivitás eredményét valós időben figyelembe vevő kezelési stratégia relapsusra gyakorolt hatásának vizsgálata saját betegeinken az Irányelv megjelenésétől napjainkig terjedő időszakban (Dél-pesti Centrumkórház, Apheresis és Össejt-feldolgozó Részleg, 2017.01.01 és 2022.06.30 közötti időszakban)

2.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

2005-ben, közel egy évtizeddel a patomechanizmus tisztázását követően az ADAMTS13 aktivitás mérése még mindig csak a nagy kutatólaboratóriumok kiváltsága volt, a vizsgálat még nem volt elérhető Magyarországon. Személyes kapcsolatokon keresztül lehetőségünk nyílt a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és

Thrombosis Központjába (ABBHTC) kiküldeni a betegek mintáit az ADAMTS13 aktivitás meghatározása céljából. Számos országból érkeztek ide minták hasonló céllal, melyből később egy nagy multicentrikus vizsgálat bontakozott ki.

Az Oklahoma TTP-HUS Regiszter adatai (163, 164) szerint a relapsus elsősorban az akut szakban deficiens aktivitású betegeket fenyegette. Megjegyezném, hogy ma már csak ezt nevezzük TTP-nek. Az irodalom abban egyetértett, hogy TTP-ben a relapsus kifejezetten magas, a TTP-s betegek legalább egyharmada-fele az élete során egy vagy több visszaesést szenved el (159-165). A relapsusok azonban semmilyen ismert szabályt nem követtek és a legváltozatosabb időpontokban jelentkeztek. Több munkacsoport (75, 165, 174) is azt találta, hogy a hematológiai válasszal párhuzamosan nem minden beteg ADAMTS13 aktivitása rendeződik. Az is előfordult, hogy a normalizálódott aktivitás újra kórossá vált (21, 165), melyet relapsus követett (21), de a betegeknél ez nem mindig következett be (165). Mivel a deficiens ADAMTS13 aktivitásnak bizonyítottan szerepe volt a kórkép patomechanizmusában, ezért logikusnak látszott, hogy a relapsusok kialakulásában is szerepet játszik. Ferrari egy nagy multicentrikus francia vizsgálat (75) során 35 első epizódos TMA-s betegnél a remisszió elején mért deficiens ADAMTS13 aktivitás és a relapsust között talált összefüggést.

Fentiek adatok ismeretében még mindig nem volt világos, hogy a remisszió későbbi fázisában mért deficiens ADAMTS13 aktivitásnak van-e befolyása a visszaesésre. Mivel a TTP aktiválódását követően a biztos túlélés soha nem garantálható, ezért a relapsus kivédése esszenciális. Ehhez azonban olyan prognosztikai adatokra lenne szükség, melyek biztonsággal képesek kiválogatni a visszaesés szempontjából legnagyobb rizikójú betegeket. Ezért:

- a) Az ABBHTC célja az volt, hogy nagyobb beteganyagban, a betegektől remisszióban random időpontokban vett mintákon mért ADAMTS13 markerek (aktivitás, antigén szint, antitest, inhibitor, ULVWF multimer) és a relapsus összefüggését tüzetesen megvizsgálja, meghatározza ezek relapsusra gyakorolt prediktív értékét legalább 1 év nyomonkövetés után. A vizsgálatba bevonták a betegmintákat küldő klinikusokat is, akiknek feladata a betegek részletes és precíz kiindulási és nyomonkövetési adatainak biztosítása és a kézirat jóváhagyása volt.
- b) Célul tűztem ki, hogy megvizsgáljam ABBHTC-val történt közös vizsgálatban szereplő magyar betegcsoport további sorsát egészen napjainkig.

3 BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával

3.1.1 Beteg és minta beválasztási kritériumok

2007 augusztusa és 2011 január között a Semmelweis Egyetem későbbi Füst György Komplement Diagnosztikai Laboratóriumába érkezett, igazoltan inhibitoros TTP-s betegek mintái kerültek be a vizsgálatba. A következő kritériumokat használtuk a beteg és a minta kiválasztásához: egy vagy több epizód során észlelt:

- a) Coombs-negatív microangiopathiás haemolyticus anaemia, fragmentocyták a perifériás kenetben
- b) thrombocytopenia (<150 G/L)
- c) emelkedett laktát-dehidrogenáz (LDH > 450 U/ L)
- d) súlyosan csökkent ADAMTS13 aktivitás (<5%)

Az akut oligoanuriás veseelégtelenségben szenvedő betegeket kizártuk a vizsgálatból. A betegek klinikai állapotát az alábbiak szerint határoztuk meg:

- a) Hematologiai remisszió (HR): ha a vérlemezkeszám 2 egymást követő napon a normális tartományba (> 150 G L) emelkedett és haemolysis jel nem volt észlelhető, még akkor is ha bármilyen neurológiai, vese- vagy egyéb maradvány klinikai tünet még kimutatható volt.
- b) Komplett remisszió (CR): akkor állapítottuk meg, ha a thrombocytaszám folyamatosan 150 G/L felett maradt legalább 1 hónapig.
- c) Relapsus: ha a tünetek legalább 1 hónapig tartó remisszió után tértek vissza.
- d) Exacerbatio: ha a tünetek 1 hónapon belül tértek vissza

A vizsgálatot (A thromboticus microangiopathiák aetiopathogenesisének komplex vizsgálata) az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatás-Értékelési Bizottsága ETT TUKEB 8361-1/2011-EKU (263/PI/11.) számon engedélyezte.

3.1.2 Vizsgálati módszerek

- a) Vérminták levétele: 13 beteg esetében rendelkezésünkre állt a PEX sorozat előtti, alatti és a befejezést követő 2 héten belüli, ill. komplett remissziós vérminta. A donor expozíció csökkentésére a PEX alatti szubsztitúciós folyadék 30-50%-a 5%-os humán albumin volt a kezelés első felében, míg a kezelés második felében a betegek FFP-t kaptak (50-70%). Tíz beteg esetében aktuálisan csak a komplett remissziós minta állt rendelkezésre, közülük a vizsgálatunk időpontjában 4/10 betegnek normál ADAMTS13 aktivitása volt, de mindegyikük anamnesisében szerepelt az ADAMTS13 ellenes inhibitor és deficiencia. A kontroll vérminták (n=17) olyan egészséges emberektől származtak, akiket életkor és nem alapján választottunk ki egymást követő egyének csoportjából, akik járóbeteg ambulancián egészséges alkalmazottak számára előírt szűrővizsgálaton jelentek meg. A kontroll nők 23 százalékának volt már terhessége. A vérmintákat (EDTA-val és nátrium-citráttal véralvadásgátolt, valamint natív vérminták) antecubitalis vénapunkcióval vagy centrális kanülből vettük, a sejteket és a felülúszót centrifugálással különválasztottuk, és hűtőtáskában (-20°C) szállítottuk a kutatólaboratóriumba, ahol részekre osztották és -70°C-on tárolták felhasználásig.
- b) A komplement fehérjék és komplement aktivációs termékek meghatározása: a serum mintákban a következő mérések történtek:
- Complement C3 (Roche Cobas Integra 800 (Tina-quant® C3c 2. ver. Cat. No.: 3001938, referencia tartomány: 0.9–1.8 g/ L);
 - I faktor és B faktor (radiális immundiffusio, mindkettő esetében referencia tartomány:70-130%) szintek;
 - H faktor szint (ELISA, referencia tartomány:127-447 mg/L);
 - Teljes alternatív úti aktivitás (Wieslab Comp AP330 kit, referencia tartomány:70–105%, Euro Diagnostica, Malmö, Sweden);
 - C3a (MicroVue C3a desarg EIA A031, egészséges kontrollok átlaga 129.6 ng/mL);
 - C4d (MicroVue C4d EIA, A008, átlag + 2 SD, tartomány: 0.7–6.3 ug/mL);
 - sC5b-9 (MicroVue sC5b-9 Plus EIA, A020, egészséges donor átlag: 200 ng/mL, SD:85, kereskedelemben kapható kittel (Quidel, San Diego, CA) lett meghatározva EDTA-s plazmából a gyártó útmutatása szerint;

- A laboratóriumunkban végzett tesztek adott napon belüli és a tesztek napok közötti variációs koefficiense $<5,5\%$, illetve $<13,5\%$ voltak.
- c) C3bBbP aktivációs termék mérése: a C3bBbP koncentrációt korábban leírtak szerint (175) szerint határoztuk meg, némi módosítással (176). Röviden: a lemezeket (Nunc, Maxisorp F96, Nunc GmbH, Langenselbold, Németország) 1:1000 arányban hígított kecske antihumán properdinnel (Incstar Corporation, Incstar, Stillwater, MN, USA) vontuk be, majd blokkolása után 1:10 arányban hígított EDTA-plazmamintákat és standardokat (zymosannal aktivált normál humán serum, hígítás: 1:100-1:12800) adtunk hozzá, valamint nyúl anti-human C3c (Dako, Dako Glostrup, Denmark) és streptavidin-peroxidase conjugate-tal (Jackson Immunoresearch, UK; Jackson West Grove, PA, USA) kezeltük. A koncentrációkat egység/mL-ben határoztuk meg: 1000 egység 1 mL 1:10 hígítású, zymosannal kezelt normál humán serum (mint az alternatív aktivációs út teljes aktiválása) C3bBbP tartalmának felel meg. Az egészséges felnőttek tipikus átlag értéke 3.4 U/mL, SD: 1,03; az intra és inter teszt variációs koefficiens $<5\%$ és $<15\%$ volt (169).
- d) C1rC1sC1-inh complex mérése: a mérést ELISA-val végeztük korábban leírtak szerint (175), némi módosítással (176). Röviden: a lemezeket (Nunc, Maxisorp F96) 1:500 hígítású antihuman C1-inh-ral (Dako) vontuk be, blokkolást követően 1:200 hígítású EDTA-s plazma mintákat és standardokat (hővel aggregált IgG-vel aktivált normál humán serum, hígítás: 1:500-1:32000) adtuk hozzá, majd 1:500 hígítású kecske antihumán C1s (DiaSorin, DiaSorin Saluggia, Italy), és 1:1000 hígítású peroxidase-conjugált nyúl anti-kecske IgG-vel (Jackson Immunoresearch) kezeltük. A koncentrációkat egység/mL-ben határoztuk meg: 1000 egység 1 mL 1:500 hígítású, hő aggregált IgG-vel aktivált normál humán serum (mint a klasszikus aktivációs út teljes aktiválása) C1rC1sC1-inh tartalmának felel meg. Az egészséges felnőttek tipikus átlag értéke 5,72 U/mL, SD: 6,8; az intra és inter teszt variációs koefficiens $<15\%$ volt (176).
- e) Az ADAMTS13 aktivitás meghatározása: A fluorigén szubsztátot, a FRETSS-VWF73-at alkalmaztuk az ADAMTS13 enzimaktivitás meghatározása a korábban leírtak szerint (177). Röviden, citrátos plazmát 1:20 arányban hígítottunk

vizsgálati pufferral (5 mM Bis-Tris, 25 mM CaCl₂, 0,005% Tween 20, pH 6,0), és összekevertük 5 uM FRETTS-VWF73 szubsztrát oldattal (mindegyik 20 uL), fehér 384 lyukú lemezen. A fluoreszcenciát 37 °C-on 2 percenként 1 órán át mértük Chameleon mikrolemes-leolvasóban (Hidex, Turku, Finnország), amely 340 nm-es gerjesztéssel és 460 nm-es emissziós szűrővel volt felszerelve. A reakciósebességet a fluoreszcencia időbeli lineáris regressziós analízisével számítottuk ki. Normál emberi plazma kétszeres hígítási sorozatát (10 egészséges véradó citrátos plazmamintáját poolozva) alkalmaztuk standard görbeként, és a 100%-os ADAMTS13 aktivitást az 1:20 arányban hígított mintában megfigyelt reakciósebességgel határoztuk meg. Az intra-assay variációs együttható <5%, az inter-assay variációs koefficiens pedig 6-9% volt (60%-os és 100%-os aktivitási szinteken mérve). Az anti-ADAMTS13 inhibitorok jelenlétét úgy határoztuk meg, hogy a beteg mintáját 1:1 arányban kevertük normál poolozott plazmával, 37 °C-on 2 órán át inkubáltuk, és megmértük a minta ADAMTS13 aktivitását. Az ADAMTS13 inhibitorok jelenlétét akkor mondtuk ki, ha a beteg eredeti mintájának aktivitása <7%, a kevert mintáé pedig <50% volt.

3.1.3 Statisztikai analysis

A tanulmányban közölt folytonos változók ferde eloszlást mutattak, és a Shapiro–Wilk teszt eredménye szerint eltértek a normál eloszlástól. Ezért leíró céllal az egyes mérések értékeit mediánként és 25–75 percentilisként vagy számokként (százalékként) adjuk meg, és a csoportos összehasonlításhoz nem-paraméteres tesztekkel használtunk; A két csoport közötti folytonos változókat a Mann–Whitney U-teszttel, három vagy több csoport esetében a Kruskal–Wallis próbával, az ismételt méréseket pedig a Friedman próbával hasonlítottuk össze. A varianciaanalízis után Dunn utótesztjét használtuk a csoportok összehasonlítására. A Pearson-féle korrelációs együtthatókat log-transzformált változókon számítottuk ki. A statisztikai elemzéseket a STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA), SPSS 13.01 (Apache Software Foundation, Chicago, DW, USA) és GRAPHPAD Prism 4.03 (GraphPad Softwares Inc., La Jolla, CA, USA) szoftverekkel végeztük. Kétszélű P értékeket számoltunk, és a szignifikancia szintet $P < 0,050$ értékre állítottuk.

3.2 A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.

a) A TTP-HUS Irányelv fejlesztése

Az Irányelv elkészítésében 3 egészségügy szakmai Tagozat képviselője vett részt az alábbi munkamegosztás szerint:

- Dr. Réti Marienn (Transzfuziológia és Hematológia Tagozat): TTP patomechanizmus és klinikai vonatkozások,
- Prof. Dr. Reusz György (Nefrológia és Dialízis Tagozat): gyermekgyógyászati vonatkozások,
- Prof. Dr. Prohászka Zoltán (Klinikai Immunológia és Allergológia Tagozat): HUS patomechanizmus és labordiagnosztikai vonatkozások.

Az Irányelv kialakítása a tagok egyéni munkáján és többszöri konzultáción keresztül valósult meg. A fejlesztő csoport célja a kutatási eredmények közvetlen átültetése a klinikai gyakorlatot segítő ajánlások megfogalmazásához.

Az irodalomkeresés alapvetően a PubMed (ncbi.nlm.nih.gov) adatbázis alapján történt (keresés lezárása 2016.03.31.) a következő kulcsszavak alapján: HUS, TTP, USS, TMA, HELLP, preeclampsia. A keresés során megtalált, publikált nemzetközi irányelvek referencialistájának elemzése szintén az irodalomkeresés részét képezte.

Az Irányelvben szereplő ajánlások minősítése bizonyíték-háttér alapján történt. Az ajánlások rangsorolását és a bizonyítékok szintjére használt besorolási rendszert a GRADE nomenklatúra alapján dolgoztuk ki [<http://www.gradeworkinggroup.org/index.htm>].

Az Irányelv ajánlásai, azok hazai ellátókörnyezetre (ellátott populáció jellemzői, preferenciái, egészségkultúrája és költségterhelhetősége, jogszabályi környezet) történő adaptálásával kerültek átvételre.

Az Irányelvet az alábbi Tagozatok hagyták jóvá:

- Transzfuziológia és Hematológia Tagozat (elnök Prof. Dr. Vályi-Nagy István),
- Nefrológia és Dialízis Tagozat (elnök: Prof. Dr. Wittmann István),
- Klinikai Immunológia és Allergológia Tagozat (elnök: Prof. Dr. Nékám Kristóf).

A visszaérkező javaslatokat beillesztettük az Irányelv szövegébe, vagy azok alapján módosítottuk a dokumentum szerkezetét.

b) *A korszerű kezelési stratégia relapsusra gyakorolt hatásának vizsgálata.*

Az Irányelv 2017 januárban jelent meg, ezért a vizsgálat kezdetének 2017.01.01-t választottuk és az adatgyűjtést 2022.06.30-ával zártuk le.

Fenti 5,5 éves időszakban 75 igazoltan TTP-s beteg fordult meg a Dél-pesti Centrumkórház Apheresis és Össejt-feldolgozó Részlegén. Kizártuk a vizsgálatból a következő 11 beteget: új beteg kezelése még zajlik:1, akut szakban exit:1, más centrumnak átadtuk gondozásra:3, csak konzilium:3, ADAMTS13 mutáció:3.

A relapsus szempontjából értékelhető 64 inhibitoros TTP-s beteget 2 csoportra osztottuk:

- RÉGI BETEGEK: A 64 betegből 45 olyan beteg volt, akinek az első epizódja 2017.01.01 előtt indult. Az ő esetükben külön értékeltük az első epizód és a 2017.01.01 közötti időszakot, valamint a 2017.01.01 és az utolsó megjelenés közötti időszakot is.
- ÚJ BETEGEK: 19 beteg esetében az első epizód 2017.01.01 után indult, a vizsgálati időszak az első epizód és az utolsó megjelenés közötti időtartamra vonatkozik.

Az általunk kezelt TTP-s betegeket rendszeresen kontrolláljuk. Az immunszuppresszív kezelést kötelezően az ADAMTS13 aktivitás szoros ellenőrzése mellett végezzük. Az ADAMTS13 vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Füst György Komplement Diagnosztikai Laboratóriuma végezte el számunkra az eredmények jelenleg 1-3 munkanapon belüli biztosításával. A relapsust az 1.9 pont alatt ismertetett terminológia alapján állapítottuk meg és az Irányelvben leírt standard terápiás elvek szerint kezeltük. Klinikai tünetek nélküli ADAMTS13 relapsus esetén immunszuppressziót kezdtünk, ha ezt a beteg elfogadta.

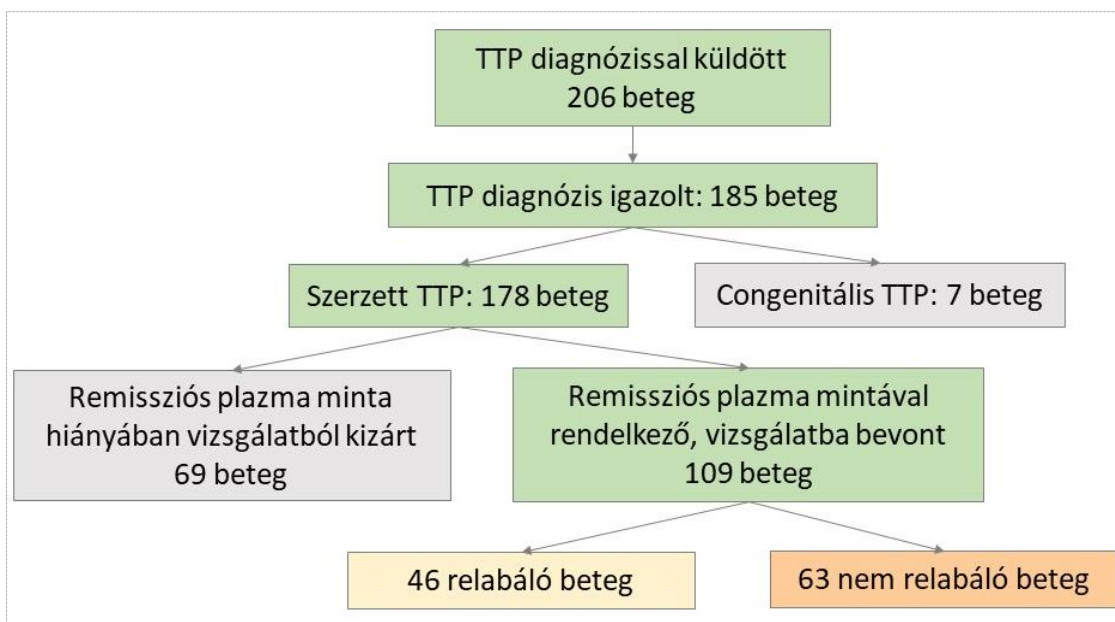
Jelen munkámmal előzetes, globális, tájékoztató adatokat kívántam gyűjteni saját tevékenységünkről a relapsust illetően. Jelen munkának nem volt célja az esetleges relapsus ráta változás okainak pontos felderítése, sem az alkalmazott különböző anti-TTP terápiák részletes elemzése és összehasonlítása. A retrospektív adatgyűjtést a Dél-pesti Centrumkórház Intézeti Kutatás Etikai Bizottsága 13837-001/2022 számon engedélyezte.

Az adatok normáleloszlás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtam. Leíró céllal az egyes csoportok értékeit mediánként és számokként adtam meg. Az analízishez a Microsoft Excel programjait, a Rate Ratio Test-et, a Khi négyzet tesztet és Kevert Poisson Modellt használtunk. A szignifikancia szintet $P < 0,050$ értékre állítottuk.

3.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

3.3.1 Beteg és minta beválasztási kritériumok

A Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjába (ABBHTC) 1994 és 2006 között küldött olasz, magyar, iráni, szlovén, szerb, montenegrói, görög, török és orosz TTP-s betegektől származó vérminták kerültek be a vizsgálatba. A vizsgálat a betegek beleegyezésével és a Milánói Központ Intézményi Felülvizsgálati Bizottságának jóváhagyásával történt.



6. ábra: TTP diagnózissal a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjára küldött betegek 1994 és 2006 között.

A minták részben az akut epizód alatt, ill. a remissziós időszakból származtak. A beküldők a klinikai adatokat egy nagyon részletes, angol nyelvű kérdőív kitöltésével szolgáltatották.

7. táblázat: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő összesen 109 TTP-s beteg klinikai és laboratóriumi adatai remisszióban az első akut epizódjukat követően

	Nem relabáló betegek (n=63)	Relabáló betegek (n=46)
Nő	43 (68%)	36 (78%)
Férfi	20 (32%)	10 (22%)
Életkor	38 (1-75)*	32 (16-69)*
Társbetegségek	35 (56%)	24 (52%)
Infekciók	16 (30%)	6 (24%)
Autoimmun betegség	13 (24%)	6 (24%)
Terhesség/szülés	4 (7%)	4 (16%)
Májbetegség	3 (6%)	1 (4%)
Gyógyszer	3 (6%)	2 (8%)
Nagy műtét	2 (4%)	0
Hematológiai daganat	0	1 (4%)
Egyéb	12 (23%)	5 (20%)
Az akut epizód és az 1. relapsus között eltelt idő (hónap)	n.a.	21 (2-144)*
Megfigyelési idő a relapsus kizáráshoz (hónap)	22 (13-134)*	n.a.
TTP-s epizódok száma (db)	1	2 (2-13)*
Remisszió hossza a mintavételkor (hónap)	10 (1-96)*	12 (1-96)*
* A medián értékek, a zárójelben a tartomány értékek vannak feltüntetve; „n” az esetszámot jelöli, „n.a.” nem alkalmazható A komorbiditások összege meghaladja a betegszámot, mivel egy betegnek több komorbiditása is lehetett.		

Az ABBHTC a diagnózist a beküldött adatok alapján ellenőrizte és akkor hagyta jóvá, ha a következő kritériumok közül legalább 3 teljesült:

- thrombocytopenia nyilvánvaló ok nélkül,
- Coombs-negative haemolyticus anaemia + fragmentocyták a perifériás vérképben
- magas LDH
- idegrendszeri vagy egyéb szervi ischaemiára utaló tünetek

Az előbbi kritérium rendszer biztosította a főbb alternatív diagnózisok (verotoxin HUS, antiphospholipid syndroma, disszeminált intravascularis coagulatio, preeclampsia, kollagén vascularis betegségek, Evans syndroma és metastaticus carcinomák) kizárását, kivéve a nagyon ritka komplement mediált atípusos HUS-t.

Az ABBHTC-be összesen 206 betegtől érkezett vérminta az adott időszakban. Összesen 185 beteg TTP diagnózisát hagyták jóvá. A vizsgálatból 7 congenitalis beteg (genetikai vizsgálattal igazolt) ki lett zárva, ill. további 69 olyan beteg, akinek nem volt remissziós mintája. Így a jelen vizsgálat 109 kaukázusi betegből állt (**6. ábra**). Egyetlen beteg sem volt plazmaterápián a minta gyűjtésének időpontjában.

A betegek 2 csoportra lettek osztva: relabáló és nem-relabáló betegekre. A relabáló csoportba 46 beteg tartozott 2-13 relapsussal, míg a nem relabáló csoportot 63 olyan beteg képviselte, akiknek nem volt relapsusa legalább 1 év megfigyelés alatt (**7. táblázat**).

A remisszió definíciója: a klinikai és laboratóriumi eltérések teljes normalizálódásának fenntartása legalább 30 napig a plazmaterápia leállítását után az akut epizód megszűnését követően.

A relapsus definíciója: a TTP klinikai és laboratóriumi tüneteinek megjelenése legalább 30 napon át fennálló remissziót követően.

A HAZAI BETEGCSOPORT ADATAI

2005-ben a Dél-pesti Centrumkórház Apheresis és Óssejt-feldolgozó Részlegén kezelt 15 TTP/HUS beteg mintáját küldtük ki az ABBHTC-ba részletes angol nyelvű klinikai adatok kíséretében. A hazai betegek közül 11 TTP-s beteg nyomonkövetési adatait kérték a későbbiekben, ez alapján arra következtettek, hogy ez a 11 beteg került be végül a vizsgálatba. Ennek a 11 betegnek az adatai a **8. táblázat**-ban külön láthatók. A retrospektív adatgyűjtést a Dél-pesti Centrumkórház Intézeti Kutatás Etikai Bizottsága 13837-001/2022 számon engedélyezte.

8. táblázat: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában szereplő 11 hazai TTP-s beteg klinikai és laboratóriumi adatai remisszióban az első akut epizódjukat követően (nem publikált saját adatok)

	Nem relabáló betegek (n=6)	Relabáló betegek (n=5)
Nő	4	4
Férfi	2	1
Életkor	38 (28-56)*	31 (28-51)*
Társbetegségek	4	2
Infekciók	2	0
Terhesség/szülés	0	1
Cholelithiasis	1	1
Hypertonia	1	0
Anyagcsere betegség	1	0
Az akut epizód és az 1.relapsus között eltelt idő (hónap)	n.a.	46 (18-117)
Megfigyelési idő a relapsus kizáráshoz (hónap)	38 (28-75)*	n.a.
TTP-s epizódok száma (db)	1	3 (2-6)*
Remisszió hossza a mintavételkor (hónap)	38 (28-75)*	41 (23-77)*
* A medián értékek, a zárójelben a tartomány értékek vannak feltüntetve; „n” az esetszámot jelöli; „n.a.” nem alkalmazható; A komorbiditások összege meghaladja a betegszámot, mivel egy betegnek több komorbiditása is lehetett.		

3.3.2 Vizsgálati módszerek

- a) Vérminták levétele: az ADAMTS13 (aktivitás, antigén és anti-ADAMTS13 antitesteket) és a VWF:Ag-t vizsgálatokhoz a vért alvadásgátlóként trinátrium-citrátot (minden betegnél) és EDTÁT (egyes betegeknel) tartalmazó csövekbe vettük le. Centrifugálást követően (2500 rpm, 15 perc, +4°C) a felülúszót lefagyaszottuk és -80°C-on tároltuk. A minták minősége lehetővé tette mind a 109

beteg esetében az ADAMTS13 aktivitás meghatározását. Az egyéb vizsgálatokat nem minden betegnél lehetett elvégezni.

- b) ADAMTS13 aktivitás mérése: az ADAMTS13 aktivitás mérése mind a 109 betegnél Gerritsen (178) által leírt kollagén kötő immunassay-vel történt az alábbi módosításokkal: tisztított VWF koncentrátumot (Facteur Willebrand Humain Tres Haute Purité; Laboratoire Francais du Fractionnement et des Biotechnologies, Lille, France) használtak az enzim szubsztrátjaként. A készítmény koncentrációját 100 U/mL-re állították, részekre osztották, majd -30°C-on tárolták. Olvasztást követően hígították (1:33 arányban, 5M ureát tartalmazó 5mM Tris-HCl, pH 8), 10 percet inkubáltak, majd a hígított VWF-ből 100 uL-t tettek a vizsgálandó, ADAMTS13 forrást tartalmazó plazma hígítási sor (1/10, 1/20, 1/40) mintáihoz. A plazmát 12,5 mM BaCl₂-t és 1 mM Pefabloc SC-4-t (Roche, Mannheim, Germany) tartalmazó 5mM Tris-HCl oldattal hígították. Az értékeket a 100% névleges ADAMTS13-aktivitású poolozott normál plazma %-ban adták meg. A Laboratóriumban használt módszer intra-assay variációs koefficiense 9%, az inter-assay variációs koefficiens 12% volt. A szenzitivitás alsó értéke 6% volt. A referenciaintervallum alsó értékét (46%) a 200 egészséges egyénnél kapott értékek eloszlásának 5. percentilisében határozták meg. Súlyos ADAMTS13 deficienciának a 10% alatti értékeket tekintettük. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy ezzel a módszerrel a plazma magas VWF tartalma nem befolyásolja jelentősen az ADAMTS13 aktivitást (179).
- c) Az ADAMTS13 antigén mérése: az ADAMTS13 antigént 77 mintában (71%) határozták meg ELISA módszerrel (180). Röviden, 20A5 egér monoklonális anti-ADAMTS13 antitest használatával microplate-hez kötötték a plazma proteázt. A lekötődött plazma proteáz kimutatásához 2 biotinilált monoklonális antitestet (5C11 és 13F7, 6,7 nM) és peroxidázzal jelölt streptavidint (Roche, Mannheim, Germany) használtak. A plazmákat 4 lépésben titrálták (1/13, 1/26, 1/52 és 1/104) és a referencia mintákhoz hasonlították. A szenzitivitás alsó értéke 2% volt, az intra és inter-assay variációs koefficiens 4% és 8% volt. A normál tartomány alsó értéke 45% volt.
- d) Anti-ADAMTS13 antitest mérése: 97 mintában (89%) végezték el a mérést western blott analysissel (181). A rekombináns ADAMTS13 enzimet termelő

sejtek felülúszóját 100 ng/sáv mennyiségben adták a gél feltöltő pufferhez (50 mM Tris-HCl pH 6.8, 2% nátrium-dodecil-szulfát, 0.1% brómfenolkék, 10% glicerin), majd ezután 7%-os nátrium-dodecil-szulfát poliakril gélelektroforézist végeztek Tris-glycin pufferben (pH 8,3), és a migrált mintákat tiszta nitrocellulóz membránra vitték át (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Sovány tejjel való blokkolást követően a membránokat a citrátos plazmamintákkal inkubálták (1:100 arányban hígítva TBS-ben, 5% sovány tej, 0,05% Tween 20, pH 7,4), amelyeket az ADAMTS13 elleni antitest lehetséges forrásaként használtak. A megkötött antitesteket alkalikus foszfatázzal jelölt antihumán immunglobulinnal (1/2000 arányban hígítva) és alkalikus foszfatáz konjugátum szubsztrát kittel (Amersham Biosciences, Uppsala, Svédország) tették láthatóvá. Nem törekedtek a módszer kvantitatív alakítására.

- e) ADAMT13 inhibitor kimutatása: az enzim inhibitor vizsgálatot a szubnormális enzim aktivitást (<46%) mutató 70 betegből 58 esetében (83%) végezték el, a vizsgált hő inaktivált beteg plazma és poolozott normál plazma 50:50 arányú keverését követően. A hő inaktiválás (56 °C-on 60 percig végzett inkubálás) célja az endogén ADAMTS13 aktivitást semlegesítése (181, 182). A beteg gátlótesttel rendelkezik (Bethesda egység), ha a maradvány enzim aktivitás kevesebb, mint a kontroll 50%-a.
- f) VWF antigén mérése: 103 mintában (94%) történt meg enzim immunassay alkalmazásával. Ennek során nyúl antihumán VWF polyclonális antitesteket használtak elsődleges és másodlagos antitestként (DAKO, Glostrup, Dánia) egyaránt. A referencia intervallumokat (42-151%) az ADAMTS13-hoz hasonlóan számolták ki.
- g) VWF multimer analysis: 79 mintában (72%) végezték el kis felbontású nátrium-dodecil-szulfát-agaróz gélelektroforézissel, 0,9%-os alacsony gélesedési hőmérsékletű agarózzal a nagyobb multimerok optimális feloldása érdekében. Elektroforézis után a géleket fixálták, mosták, és I-125-tel jelzett humán anti-VWF antitestekkel (Amersham, Egyesült Királyság) kezelték, majd autoradiográfiára áttették az erősítő kazettákba. A VWF multimerokat denzitométerrel (Scanjet 5200 C; Hewlett Packard, Piscataway, NJ, USA) scannelték, amely a multimerokat csúcsokban (OD × mm) bontotta fel, és a

denzitometriás analízist szoftver segítségével (Image Master; Amersham Pharmacia). Biotech, Piscataway, NJ, USA) végezték el. A VWF multimereket alacsony molekulatömegűekként (az 1-5. sávnak megfelelő), közepes molekulatömegűekként (6-10. sávok) és nagy molekulatömegűekként (>10 sávok) határozták meg. Az egyes területeket a teljes terület százalékában adták meg. Az ULVWF multimereket akkor tekintették jelen lévőnek, ha a nagy molekulatömegű multimerek százalékos aránya magasabb volt, mint 34%, azaz 50 egészséges egyén plazmájában talált átlagértéket ($28,3 \pm 2,7\%$) 2-szeres szórással haladta meg. Minden elektroforézis futtatáshoz használtak pozitív kontrollt az ULVWF multimerek vizualizálásához. Ehhez desmopressin normál önkéntesnek történő infúziója után 30 perccel vett és nagy mennyiségben tárolt plazmamintát használtak, mivel ezekben a mintákban az ULVWF multimerek mindig megtalálhatók.

3.3.3 Statisztikai analysis

A folytonos változók esetében a relabáló és nem relabáló betegek közötti különbségeket Mann Whitney U teszttel értékelték. A diszkrét változók esetében a különbségeket a χ^2 teszt vagy a Fisher-féle egzakt teszt segítségével analizálták. A Kolmogorov-Smirnov próbát használták a folytonos változók eloszlásának normalitás vizsgálatára. Spearman rangsorolási korrelációs együtthatóját használták a változók közötti korreláció vizsgálatára. Logisztikus regressziós elemzést alkalmaztak az esélyhányadosok és a 95%-os konfidenciaintervallumok kiszámítására, amelyeket a vizsgált tényezőkhöz kapcsolódó megismétlődés valószínűségének becsléseként használtak. A kiigazított esélyhányadosokat egy lineáris logisztikai modelltől kapták, amely magában foglalta az érdekes tényezőt és az összes többi tényezőt, amelyhez igazítani akarták. A kiigazítatlan esélyhányadosok egy olyan modelltől származtak, amely csak az érdekes tényezőt tartalmazta. A 0,05-nél kisebb P értékeket tekintették statisztikailag szignifikánsnak. Az elemzések az SPSS csomag 14.0-s verziójával készültek.

4 EREDMÉNYEK

4.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával

A betegek klinikai adatait a **9. táblázat**-ban foglaltam össze. A TTP-betegek medián életkora 38 éves volt (IQ tartomány 31-44), míg az egészséges kontrollban csoportban 38 (31–46) év. A nők és férfiak aránya (17/6 a betegeknél és 13/4 a kontrolloknál) hasonló volt a betegeken és a kontrollokon, és a vizsgált csoportok BMI értékei is hasonlóak voltak ($P > 0.05$). Átlagosan az első TTP-epizód 36 éves korban jelentkezett betegeinknél, és átlagosan egy betegnek 2,0 epizódja volt. Kumulatív terápiaként a 23 beteg mind a 47 epizódját figyelembe véve a következő gyógyszereket alkalmaztuk: kortikoszteroidok: 100%, cyclophosphamid: 52%, acetylsalicylsav: 43%, rituximab: 22%, vicristin: 30%, azathioprin: 22%, intravénás immunglobulin: 9%, Asasantin (dipyridamol + acetylsalicylsav) vagy Persantin (dipyridamol):13%, LMWH: 4%, két beteg pedig ticlopidint kapott 1995-ben és 1996-ban. Splenectomián három (13%) beteg esett át. Az utolsó (jelenlegi) epizód során a betegek 78%-nak volt neurológiai tünete, hasi panaszok 39%-nál jelentkeztek, vesefunkció romlás 17%-nál, míg csak hematológiai tünetek 13%-nál volt észlelhető.

Minden betegnél H faktor ellenes antitest szűrést végeztünk és egyik beteg sem lett pozitív. Minden betegnél történt immunológiai szűrővizsgálat (antinukleáris antitest, anti-dsDNS, anticardiolipin autoantitestek, lupus anticoaguláns). Egyik betegnél sem lehetett SLE-t, antiphospholipid szindróma vagy egyéb szisztémás autoimmun rendellenesség diagnózisát kimondani az ARA kritériumok alapján.

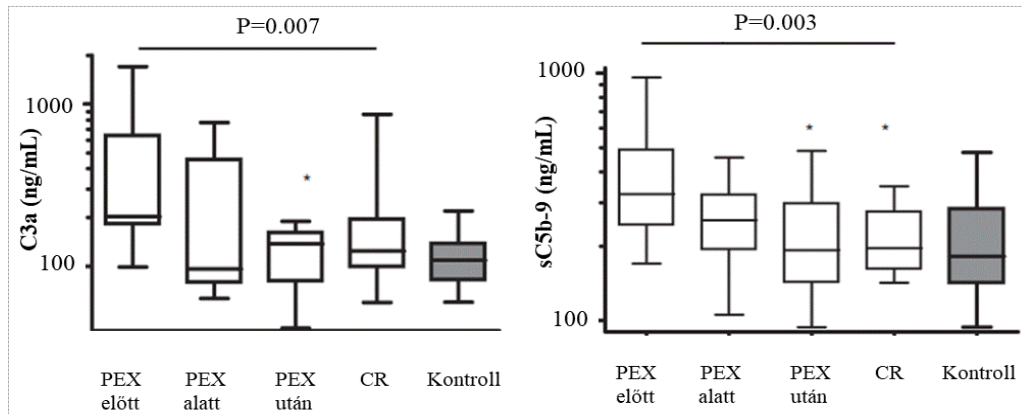
Kevés trigger tényezőt tudtunk azonosítani ebben a betegcsoportban: mind össze 2/23 terhességet, 1/23 sepsissel társuló missed abortuszt és 3/23 fertőzést rögzítettek. Az akut TTP-epizódban szenvedő betegeknél összesen átlagosan 15 (tartomány:4–38) plazmacsere kezelésre volt szükség a remisszió eléréséhez. Mind a 10, csak a remisszió során észlelt beteg korábban sikeres terápiás plazmacsere kezeléseken esett át az akut TTP-epizód során.

9. táblázat: A Semmelweis Egyetem Kutatólaboratóriumába 2007 augusztus és 2011 január között vizsgálatra érkezett 23 TTP-s beteg klinikai adatai

Regiszter kód	Nem	Életkor az első TTP epizódnál	Első TTP epizód	Utolsó TTP epizód	TTP epizódok száma	Súlyos ADAMTS13 deficiencia + inhibitor	Kumulatív terápia összes epizód	Klinikai tünetek (Jelenlegi / utolsó epizód)	PEX-k száma (Jelenlegi epizód)
Akut TTP-s betegek									
HUN1	nő	26	2007	2010	3	igen	S, IVIG, Rit	N	15
HUN15	férfi	55	2008	2008	1	igen	S, Cy	G	10
HUN23	férfi	38	2008	2008	1	igen	S	V, G	12
HUN56	nő	40	2006	2010	2	igen	S, Cy, Asasantin, LMWH	N	8
HUN62	nő	17	1991	2009	4	igen	S, Cy, Persantin, ASA	N, G	15
HUN68	férfi	43	2010	2010	1	igen	S, Cy	N	19
HUN72	nő	13	2010	2010	1	igen	S, Cy, Rit	N, G	15
HUN76	nő	58	2010	2010	1	igen	S, Cy, ASA	N	7
HUN85	nő	49	2010	2010	1	igen	S, Cy, IVIG, ASA, VCR, Rit	N	38
HUN86	nő	42	2010	2010	1	igen	S, Cy, ASA	N, G	9
HUN126	férfi	36	2010	2011	2	igen	S, Cy, Rit	Nincs	28
HUN127	nő	30	2010	2010	1	igen	S, Rit	N	9
HUN131	nő	39	2006	2011	2	igen	S, ASA	Nincs	4
Komplett remisszióban lévő TTP-s betegek									
HUN3	férfi	29	1999	2006	3	igen	S, PEX	N	NA
HUN28	nő	35	2008	2008	1	igen	S, AZA, PEX	N, V, G	NA
HUN31	nő	31	2008	2008	1	igen	S, PEX	Nincs	NA
HUN53	nő	35	1994	1998	2	igen	S, AZA, ASA, Asasantin, PEX	N	NA
HUN58	nő	20	1983	2010	3	igen	S, Cy, AZA, VCR, PEX, ASA, Spl	N	NA
HUN65	nő	21	1995	2002	6	igen	S, AZA, VCR, ticlopidin (1995-ben), Spl, PEX	N, V, G	NA
HUN70	nő	44	2006	2006	1	igen	S, Cy, VCR, PEX	N	NA
HUN78	nő	38	2001	2001	1	igen	S, VCR, ASA, PEX	N, V, G	NA
HUN89	férfi	19	1996	2003	4	igen	S, VCR, Ticlopidin (1996-ban), ASA, PEX	N	NA
HUN115	nő	41	2000	2006	4	igen	S, Cy, VCR, AZA, ASA, Spl, PEX	N, G	NA

ASA: kis dóziszú acetylsalicylsav, AZA: azathioprin, BMI: body mass index, Cy: cyclophosphamid, IVIG: intravenás immunoglobulin, LMWH: low molecular weight heparin, PEX: plazmacsere, Rit: rituximab, S: corticosteroid, Spl: splenectomia, VCR: vincristin, N: neurológiai, V: vese, G: gastrointestinalis

- a) A komplement aktiváció folyamata a PEX során TTP-ben: A **7. ábra** annak a 13 akut TTP-s betegnek adatait mutatja be, akiktől PEX-sorozat előtt, alatt, után és komplett remisszióban vett vérminta egyaránt rendelkezésre állt.

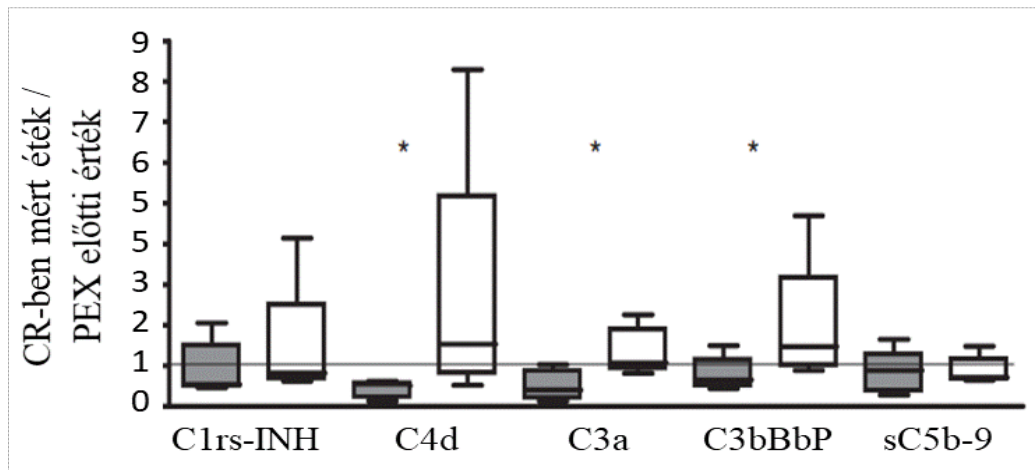


7. ábra: A komplement aktivációs termékek – C3a és az sC5b-9 - szintjének változása az akut TTP-betegekben a terápiás plazmacsere hatására. A rendelkezésre álló pre-PEX és követési mintákkal (n = 13) rendelkező akut TTP-s betegek C3a (bal oldali ábra) és sC5b-9 (jobb oldali ábra) eredményei (medián, IQ-tartomány és minimum-maximális értékek) láthatók az ábrákon. A Friedman-tesztek P-értékei vannak feltüntetve, a * jelzi, ha a Dunn-féle utóteszt P < 0,05, összehasonlítva a PEX előtti értékkel.

A páros, nem parametrikus varianciaanalízis eredményei szerint a komplement aktivációs termék C3a és sC5b-9 szintje szignifikánsan csökkent a PEX sorozat során (mind P < 0,05). A C3a és sC5b-9 koncentrációja azonnali csökkenést mutatott a PEX sorozat alatt és/vagy közvetlenül a PEX leállítását követően vett mintákban (mind P < 0,05, Dunn post-teszt), és a komplement aktivációs termékek alacsonyak maradtak a CR alatt. Ha a C3a és sC5b-9 szinteket TTP-betegekben és egészséges kontrollokban együtt elemeztük Kruskal–Wallis ANOVA segítségével, a különbségek szignifikánsnak bizonyultak (P = 0,002 a C3a és P = 0,033 az sC5b-9 esetében), és a Dunn post-teszt szerint, a C3a (P < 0,01) és az sC5b-9 (P < 0,05) szintje szignifikánsan magasabb volt a PEX előtti mintákban az egészséges kontrollokhoz képest.

A komplement aktivációs markerek csökkenése mind a 13 betegnél kimutatható volt a PEX sorozat alatt vagy közvetlen utána levett vérminták esetében melyet a thrombocytaszám emelkedése és komplett remisszió kialakulása követett (nincs mutatva).

- b) ADAMTS13 inhibitor, mint a komplement aktiváció iniciáló tényezője: az ADAMTS13 gátló antitest minden akut TTP-ben szenvedő betegünkben jelen volt a PEX-sorozat megkezdése előtt, és a teljes remisszió elérése után ebből a 13 betegből nyolcnál vált negatívvá. Elemeztük, hogy az ADAMTS13 inhibitor eltűnése összefüggésben áll-e a komplement aktivációs termékszintek csökkenésével a PEX-sorozat során.



8. ábra: A komplement aktivációs termékszintek (CR/akut) változásai a PEX-sorozat előtt és után mérve, az ADAMTS13 inhibitor státusza szerint remisszióban. Minden akut TTP-ben szenvedő beteg (n = 13) ADAMTS13-inhibitor pozitív volt a PEX-sorozat megkezdése előtt. Azok, akik a teljes remisszió elérése után is inhibitor pozitívak maradtak, világoskék vannak jelölve (n = 5), míg akik ADAMTS13-inhibitor negatívvá váltak, szürkeként (n = 8). CR: komplett remisszió, PEX: plazmacsere. *0,05-nél kisebb P-értékeket kaptunk a Mann–Whitney tesztben, összehasonlítva az inhibitor negatívak és pozitívak eredményeit.

Amint a **8. ábrán** látható, egyértelmű csökkenés volt megfigyelhető a C4d, C3bBbP és C3a esetében az ADAMTS13 inhibitor-negatív csoportban, míg az

inhibitor pozitív csoportban ezek az aktivációs termékek szintjei nem csökkentek vagy növekedtek.

4.2 A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.

a) *TTP-HUS Irányelv fejlesztése*

Az Irányelv összesen 9 nemzetközi guideline alapján készült. Az Irányelvben részletesen tárgyaltuk a TTP, a HUS és a secunder TMA formák patomechanizmusát, differenciál és labordiagnosztikáját, valamint a lehetséges terápiákat. A betegek részére összeállítottunk egy részletes Betegtájékoztatót is.

Összesen 60 ajánlással, 1 diagnosztikai és 2 ellátási algoritmussal, valamint 10 összefoglaló táblázattal kívántuk a célcsoport munkáját elősegíteni.

Számos további javaslatot fogalmaztunk meg az egészségügyi döntéshozók, ellátásszervezők felé az Irányelv alkalmazási feltételeinek hazai megteremtéséhez.

b) *A korszerű kezelési stratégia relapsusra gyakorolt hatásának vizsgálata.*

A Dél-pesti Centrumkórház Apheresis és Össejt-feldolgozó Részlegén 2017.01.01-óta legalább 1 alkalommal megjelent RÉGI (TTP első epizódja 2017.01.01 előtt) és ÚJ betegek (TTP első epizódja 2017.01.01 után) relapsus adatait vizsgáltuk meg. Az eredményeket a **10. táblázat**-ban foglaltam össze.

A vizsgálat indulásakor (2017.01.01) a RÉGI és az ÚJ betegek életkora azonos volt, bár az első epizód idejében a RÉGI betegek szignifikánsan (életkor: 35 év vs. 46 év; tartomány:13-62 év vs. 18-68 év; P=0,017) fiatalabbak voltak. A betegek 4/5-e volt nő minkét vizsgálati csoportban.

Szignifikánsan különbözött a betegcsoportok nyomonkövetési ideje 2017 előtt és után (nincs mutatva), ezért csak a relapsus rátát hasonlítottuk össze.

A betegcsoportok jellemzésére a relapsus rátát a betegcsoportban észlelt összes relapsus és a betegcsoport összes betegének hányadosával határoztuk meg. A 2017 előtt kezelt RÉGI betegek esetében a relapsus ráta 0,160 relapsus/év volt, míg a 2017 után kezelt ÖSSZES beteg esetében ez szignifikánsan a felére, 0,071 relapsus/év-re csökkent (Relapse Rate Ratio: 2.259, 95% CI: 1.32-4.05, P=0.002). Hasonlóan szignifikáns

különbség mutatkozott a RÉGI betegek izolált vizsgálata során a 2017 előtti és a 2017 utáni időszak összehasonlításakor (0,160 relapsus/év vs. 0,085 relapsus/év, Relapse Rate Ratio: 1.8671, 95% CI: 1.08-3.40, P= 0.02).

10. táblázat: A Dél-pesti Centrumkórház, Apheresis és Óssejt-feldolgozó Részlegén 2017.01.01 és 2022.06.30 között megjelent TTP-s betegek relapsus adatai (saját, még nem közölt adatok)

	RÉGI BETEGEK TTP első epizódja 2017.01.01 előtt		ÚJ BETEGEK TTP első epizódja 2017.01.01 után	ÖSSZES BETEG 2017.01.01 után
	2017.01.01 előtt	2017.01.01 után		
Betegek száma	45		19	64
Medián életkor 2017.01.01-én (év)* (tartomány)	40 (18-77)		42 (17-67)	41 (17-77)
Férfi/Nő (arány %)	7 / 38 (16 / 84)		4 / 15 (21 / 79)	11 / 53 (17 / 83)
Medián nyomonkövetés (év) (tartomány)	6,71 (0,11-33,91)	5,28 (0,14-5,44)	2,86 (1,01-5,12)	4,71 (0,14-5,44)
Relabáló betegek száma (arány)	20 (44%)	14 (31%)	1 (5%)	15 (24%)
Összes relapsusok száma	65	17	1	18
Összes betegév	407	199	56	255
Éves relapsus ráta*** (tartomány)****	0,160 (0,00-0,83)	0,085 (0,00-0,49) (P = 0.02)**	0,018 (0,00-0,30)	0,071 (0,00-0,49) (P=0.002)**

A táblázat a DPC Apheresis és Óssejtfeldolgozó Részlegén 2017.01.01 után legalább 1-szer megjelent, relapsus szempontjából értékelhető, igazoltan TTP-s betegek adatait tartalmazza.

RÉGI beteg: első TTP epizód 2017.01.01 előtt, vizsgálati időszak: az első epizód és 2017.01.01 között és 2017.01.01 és az utolsó megjelenés között.

ÚJ beteg: első TTP epizód 2017.01.01 után, vizsgálati időszak: első epizód és az utolsó megjelenés között.

* Az 1. epizód idején a RÉGI betegek szignifikánsan fiatalabbak voltak (életkor: 35 év vs. 46 év; tartomány: 13-62 év vs. 18-68 év; P=0,017).

** Az eredmény szignifikáns a Rate Ratio teszt alapján.

*** Éves relapsus ráta: Összes relapsus/összes betegév.

**** A tartomány értékeknél a betegek egyéni éves relapsus rátájának min/max értékei vannak feltüntetve.

A 2017 utáni összes beteg vizsgálatakor ugyancsak jelentős, de nem szignifikáns különbséget találtunk a RÉGI és ÚJ betegek között mind a relabáló betegek számában (14 vs. 1; P=0,06), mind a relapsus rátában (0,085 relapsus/év vs. 0,018 relapsus/év, Relapse Rate Ratio: 4.7780, 95% CI: 0.749-199.48, P=0.1).

Kevert Poisson regressziós modellt alkalmazva 2017 előtt a betegek nemre, korra és a megfigyelés hosszára illesztve 2.05-ször gyakrabban szenvedtek el relapsust, mint 2017 után (Incidence Rate Ratio: 2.05, 95% CI: 1.08-3.90, P= 0.029). Fentiek alapján megállapítható, hogy az elmúlt 5,5 éves időtartam alatt betegeink relapsusa szignifikánsan csökkent, a pontos okok federítésére további vizsgálatok szükségesek.

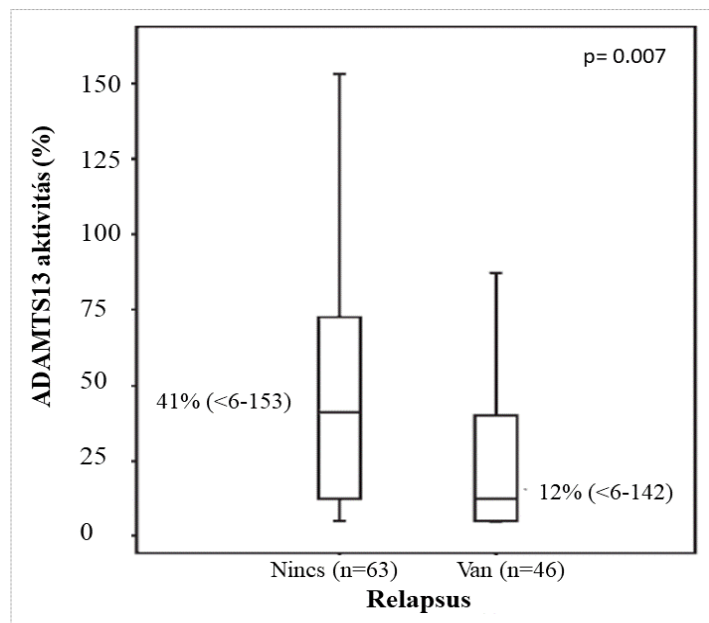
4.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

A 11. táblázat-ban láthatók az elvégzett laborvizsgálatok összefoglaló adatai.

11. táblázat: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő összesen 109 TTP-s beteg remisszióban vett mintáinak laborvizsgálati eredményei			
	Nem relabáló betegek (n=63)	Relabáló betegek (n=46)	P
ADAMTS13 aktivitás (n=109)	41% (<6-153)*	12% (<6-142)*	0.007
ADAMTS13 antigén (n=77)	58% (<2-122)*	36% (<2-101)*	0.003
Deficiens ADAMTS13 aktivitás (n=109)	22%	46%	0.01
Anti-ADAMTS13 antitest-Western blott (n=97)	36%	64%	0.006
Anti-ADAMTS13 inhibitor (n=58)	36%	63%	0.006
VWF antigén (n=103)	154% (30-505)*	166% (44-310)*	0.3
Ultralarge VWF multimer (n=79)	14%	17%	0.7
* A medián értékek, a zárójelben a tartomány értékek vannak feltüntetve; „n” az esetszámot jelöli			

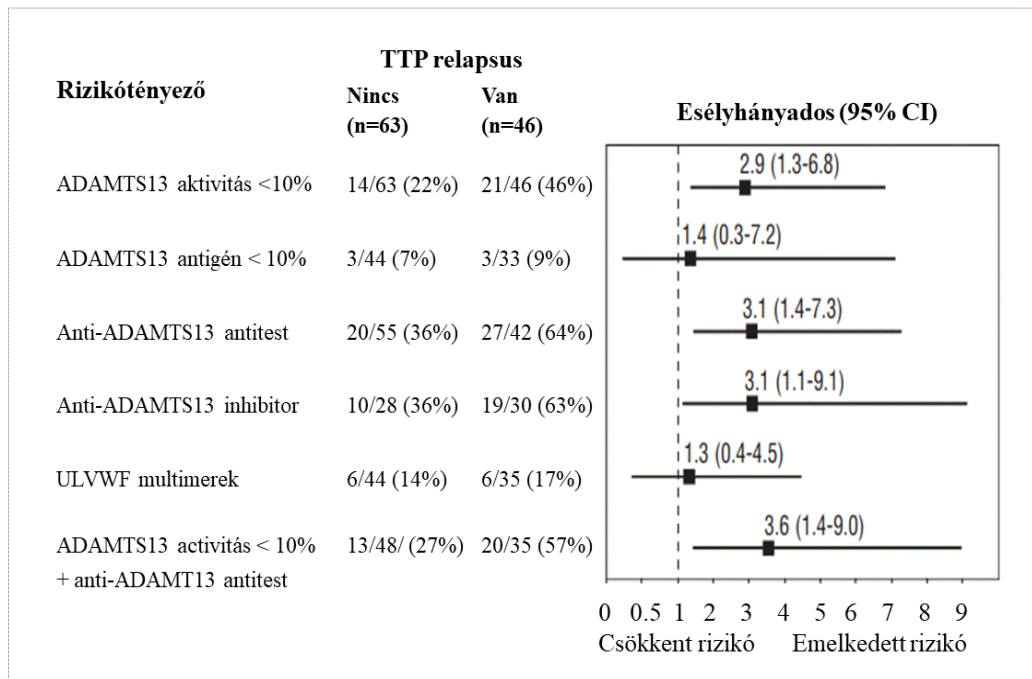
Bár a TTP a nőknél kétszer olyan gyakori volt, mint a férfiaknál, önmagában a női nem a relapsus szempontjából mégsem volt rizikó tényező (OR:0,73; 95% CI:0,31-1,73; P=0,5; **7. táblázat**). Társbetegségek megléte vagy hiánya szintén nem befolyásolta a relapsusok létrejöttét (OR:1,1; 95% CI:0,5-2,5; P=0,7; **7. táblázat**).

- a) **ADAMTS13 aktivitás:** Deficiens ($\leq 10\%$) ADAMTS13 aktivitás remisszióban a vizsgált összes beteg 32%-ban fordult elő, ez az érték a hazai betegeknél 27% volt. A visszaeső TTP-s betegek ADAMTS13-aktivitása szignifikánsan alacsonyabb volt remisszióban, mint azoké, akiknél nem volt relapsus (median ADAMTS13-aktivitás 12% vs. 41%; tartomány:<6%-142% vs. <6%-153%; P=0,007, **9. ábra**).



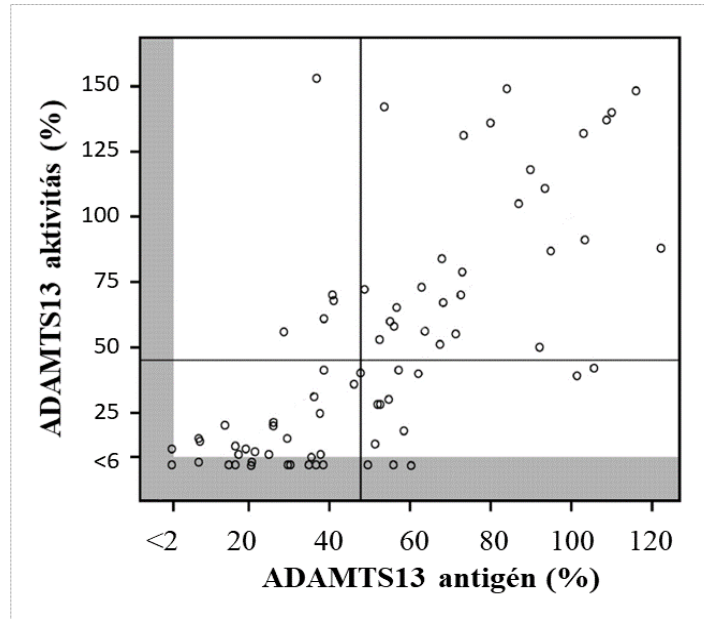
9. ábra: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő összesen 109 TTP-s betegnél végzett ADAMTS13 aktivitás mérések eredménye remisszióban a relabáló (n=46) és a nem relabáló (n=63) betegcsoportokban. A téglalapok a kvartilis tartományt, a folytonos vízszintes vonalak pedig a megfelelő medián értékeket jelölik. A dobozok tetején és alján lévő bajusz a legmagasabb és legalacsonyabb értékeket mutatja.

- b) A deficiens ADAMTS13 aktivitás prevalenciája magasabb volt a visszaeső TTP-ben szenvedő betegeknél (46% vs. 22%, $P=0,01$, OR:2,9; 95% CI:1,3-6,8, **10. ábra**). A súlyos ADAMTS13-deficienciához kapcsolódó relapsus valószínűsége multivariancia analízis esetén is statisztikailag szignifikáns maradt, figyelembe véve a nemet (OR:2,9; 95% CI:1,3-6,8), az életkort (OR:2,8; 95% CI:1,2-6,4) és a társbetegségek/állapotok jelenlétét (OR:3,0; 95% CI:1,3–6,8), valamint amikor az összes társvariánst szerepeltettük a modellben (OR:2,7; 95% CI:1,2–6,4).



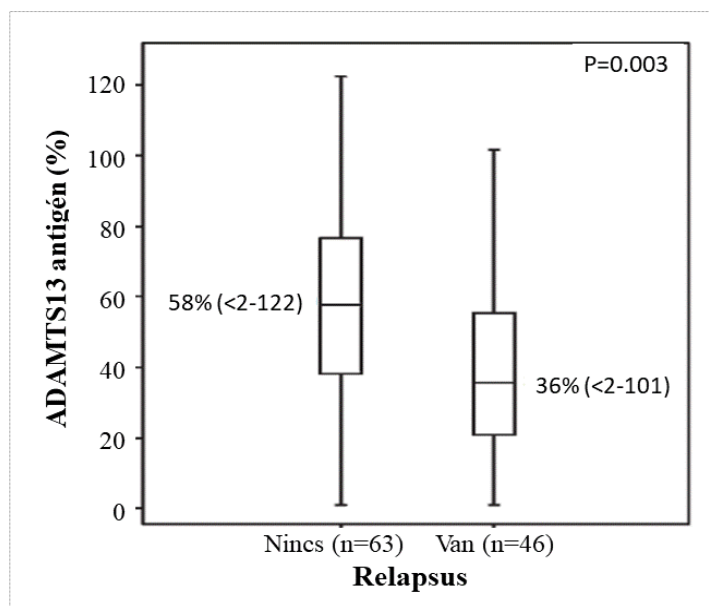
10. ábra: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő összesen 109 betegnél végzett vizsgálatok alapján a TTP kiújulásának markerei. Az esélyhányadosok tömör négyzetek formájában jelennek meg, a 95%-os konfidenciaintervallumot (95%CI) vízszintes vonalak képviselik.

- c) ADAMTS13 antigén: A remisszió során 77 betegnél mért ADAMTS13 aktivitás és antigén plazmaszintek között pozitív korrelációt (Spearman rho: 0,71) találtunk, de 3 beteg esetében a deficiens enzimaktivitáshoz normális (>46%) antigén szint társult **11. ábra**).



11. ábra: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő 77 szerzett TTP-ben szenvedő betegnél az ADAMTS13 aktivitás és az antigén összehasonlítása az akut epizódot követő remisszió során. A függőleges és a vízszintes vonalak az ADAMTS13 antigén és aktivitás normál tartományának alsó határait jelzik. A szürke területek az ADAMTS13 aktivitás és az antigén vizsgálatok érzékenységi határait jelzik (lásd a „Betegek és Módszerek” részt).

A relabáló TTP-ben szenvedő betegeknél szignifikánsan alacsonyabb volt az ADAMTS13 antigén szintje, mint a nem relabáló betegeké (medián és tartomány értékek: 36%, <2%–101%, vs. 58%, <2–122%; $P=0,003$, **12. ábra**). Súlyos antigén deficiencia (<10%) csak 8%-uknál volt kimutatható. Ugyanakkor a súlyos ADAMTS13 antigén deficiencia nem volt szignifikáns hatással a relapsusra (OR: 1,4; 95% CI:0,3-7,2, **10. ábra**) és ez nem változott a nemre, korra és kapcsolódó állapotokra vagy betegségekre való illesztés után sem.



12. ábra: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában részt vevő 77 TTP-s betegnél elvégzett ADAMTS13 antigén mérések eredményei remisszióban a relabáló (n=46) és a nem relabáló (n=63) betegcsoportokban. A téglalapok a kvartilis tartományt, a folytonos vízszintes vonalak pedig a megfelelő medián értékeket jelölik. A dobozok tetején és alján lévő bajusz a legmagasabb és legalacsonyabb értékeket mutatja.

- d) Anti-ADAMTS13 antitestek: A 97 vizsgált plazmamintából 47 (48%) esetben lehetett kimutatni anti-ADAMTS13 antitestet Western blot analízissel, melyek közül 29 (62%) minta gátló aktivitást is mutatott. Az anti-ADAMTS13 antitest prevalenciája (a gátlástól függetlenül) szignifikánsan különbözött ($p=0,006$) a relabáló és nem relabáló betegcsoport között. Míg az előbbi betegcsoport 64%-ánál találtunk anti-ADAMTS13 antitesteket a remisszió során (70%-nak volt gátló hatása), addig az utóbbi esetben csak a betegek 36%-nál volt igazolható anti-ADAMTS13 antitest (50%-nak volt gátló hatása). A gátló és nem gátló antitestek azonos mértékben növelték a relapsus valószínűségét (OR:3,1; 95% CI:1,4-7,3 vs. OR:3,1; 95% CI:1,1-9,1; **10. ábra**). Mivel a deficiens ADAMTS13 aktivitású betegek mindegyike anti-ADAMTS13 antitestekkel is rendelkezett Western blot analízissel, nem lehetett az egyes rizikófaktorok független szerepét vizsgálni. Ugyanakkor nem minden anti-ADAMTS13 antitesttel rendelkező betegnél volt

ADAMTS13 deficiens aktivitás. Kimutatható anti-ADAMTS13 antitest és deficiens ADAMTS13 aktivitás együttesese növelte legjobban a relapsus esélyét (OR:3,6, 95% CI:1,4-9,0; P=0,006; **10. ábra**).

- e) Von Willebrand faktor: A 103 remisszióban vizsgált beteg VWF:Ag szintje meghaladta 100 nem és életkor szerint illesztett egészséges ember értékeit (medián: 160% vs. 104%, P<0,0001), de nem volt szignifikáns különbség a relabáló és nem relabáló betegek között (166% vs. 154%, P=0,3).
- f) ULVWF multimerek: 79 vizsgált beteg közül mindössze 12-ben (15%) voltak jelen, közülük ötnél súlyos ADAMTS13-hiány mutatkozott, hétnél pedig mérhető szint. Nem volt szignifikáns különbség a relabáló és nem relabáló betegcsoport között (17% vs. 14%; OR:1,3; 95% CI: 0,4-4,5; P=0,7; **10. ábra**)

A HAZAI BETEGEK HOSSZÚTÁVÚ KÖVETÉSE:

A 11 hazai beteg remisszióban vett mintáinak összesített laborvizsgálati eredményeit a **12. táblázat**-ban tüntettem fel (az adatok a cikkben nem szerepelnek, az eredményeket külön kaptuk meg).

A vérminták levételétől számított elmúlt 17 évben (2005-2022) a 11 hazai beteg sorsa az alábbiak szerint alakult:

- RELABÁLÓ betegek: betegeink medián ADAMTS13 aktivitása a kiküldött mintákból 20%-nak (tartomány: 6-118) bizonyult az utolsó TTP-s epizódjukat követő medián 41 hónappal (tartomány:23-77) követően. Az 5 relabáló beteg közül 4 betegnek volt subnormális aktivitása, mindössze 1 beteg eredménye volt a normál tartományban. ADAMTS13 deficiencia 2 betegnél volt észlelhető. A relabáló betegek közül 4 betegnek volt anti-ADAMTS13 antitestje, de csak 1 betegnek volt inhibitora. A vizsgálatig a betegeknek medián 3 (range: 2-6) relapsusa volt. Az 5 betegből 4 betegnek (80%!) lett újabb relapsusa (egyiknek 2-szer), melyek a vizsgálatig észlelt utolsó TTP-s epizódot követően 7-13 évvel később jelentkeztek. Az első betegnél 13 év stabil remisszió után banális felsőlégúti infekcióhoz társuló fulmináns relapsus jelentkezett és sajnos a kórházba még a saját lábán érkező beteget a kórházi felvételt követő 5 óra múlva a plazmacsere alatt elvesztettük. A második betegnél ugyancsak 13 év stabil

remisszió után észleltünk relapsust, melynek kialakulásában ismételt stroke miatt adott clopidogrel hatást feltételeztünk. Bár a beteg TTP-jét komplett remisszióba hoztuk, post-stroke neurológiai maradványtünetei miatt néhány hónappal később remisszióban exitált. A harmadik betegnél a relapsus 7 éves remissziót követően, cholecystolithiasissal társulva jelentkezett. Többszörös korai visszaeséssel tarkított hosszas kezelést követően végül remisszióba került, további 4 év alatt újabb relapsust nem észleltünk, 2011 végén láttuk őt utoljára. A negyedik betegünknel 8 évvel, majd újabb 9 évvel később észleltünk relapsust. Egyik esetben sem volt azonosítható trigger tényező, mindkét esetben nehezen került remisszióba, 2009-ben cyclophosphamidra, 2019-ben rituximabra is szükség volt. Az ötödik betegünknek 2003-óta relapsusa nem volt. ADAMTS13 aktivitása a 30-50% közötti tartományban ingadozott, az utóbbi időben ez tartósan 30% alá csökkent. Tekintettel a többszörös korábbi visszaesésre, az extrém súlyos klinikumra (többheti gépi lélegeztetés, trachea stent beültetés), a beteggel közösen preemptív rituximab terápia mellett döntöttünk, mely után az ADAMTS13 aktivitása normalizálódott. A betegcsoport teljes nyomon követési ideje medián 20 év (tartomány:13-31).

- NEM RELABÁLÓ betegek: a vizsgálat időpontjában ADAMTS13 aktivitásuk medián 108% (range: 6-153) volt az első epizódot követő medián 38 (range: 28-75) hónappal. A 6 beteg közül 1 betegnek volt deficiens, egy 1 betegnek enyhén subnormális és 4 betegnek normális ADAMTS13 aktivitása. A betegek egyharmadánál volt anti-ADAMTS13 antitest kimutatható, de egyiknek sem volt gátló antitestje. Ebben a betegcsoportban további medián 16 év (range: 3-17) nyomonkövetés során sem észleltünk relapsust. Az egyetlen deficiens beteg deficienciája a 19 éves obszerváció során végig kimutatható maradt magas inhibitor szint mellett a folyamatosan stabil remisszió ellenére. A subnormális aktivitású betegnél több évvel később SLE-t és thrombophiliát diagnosztizáltunk, jelenleg is ennek megfelelő kezelést kap. Egy másik betegünk kezdeti stabilan normális aktivitása az évek során fokozatosan 30% köré csökkent, kimutatható antitest nélkül. A beteget jelenleg obszerváljuk, további aktivitás csökkenés és az inhibitor megjelenése esetén rituximab adását tervezzük. Ennek a csoportnak a teljes nyomon követési ideje medián 19 év (tartomány: 9-20).

12. táblázat: a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának vizsgálatában szereplő 11 hazai TTP-s beteg remisszióban vett mintáin végzett laborvizsgálatok eredményei (nem publikált saját adatok)

	Nem relabáló betegek (n=6)	Relabáló betegek (n=5)
ADAMTS13 aktivitás	108 (6-153)*	20 (6-118)*
Deficiens ADAMTS13 aktivitás	1	2
Subnormális ADAMTS13 aktivitás	1	2
Normális ADAMTS13 aktivitás	4	1
Anti-ADAMTS13 antitest - Western blott	2	4
Anti-ADAMTS13 inhibitor	0	1
Későbbi relapsus	0	4
Későbbi relapsus időpontja a study előtti utolsó epizódhoz képest (év)	na.	11 (7-13)*
Teljes nyomonkövetési idő (év)	19 (9-20)*	20 (13-31)*
* A medián értékek, a zárójelben a tartomány értékek vannak feltüntetve; „n” az esetszámot jelöli,		

5 MEGBESZÉLÉS

5.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával

Munkánk során a TTP akut szakában a komplement aktivációs termékek megnövekedett plazmaszintjét találtuk, mely lecsökkent a plazmaterápia megkezdésekor és melyet a thrombocytaszám emelkedése és a remisszió elérése követett. Patológias mértékű komplement aktivációt és consumptiót csak a betegeink 15%-nál észleltünk, mindhárom aktivációs út (klasszikus/lektin és alternatív út) aktiválódásával és a terminálás út beindulásával. Az ADAMTS13 inhibitor tartós jelenléte akut TTP után a komplement aktivációs termékek állandóan magas szintjével járt együtt, beleértve a C4d, C3a és C3bBbP szintet, még a klinikai remisszió elérése után is, míg az ADAMTS13 inhibitor eltűnése a C4d és C3a csökkenésével volt összefüggésben komplett remisszióban, jelezve az alacsony klasszikus/lektin úti aktivitást. Eredményeink azt mutatják, hogy az akut TTP epizód komplex terápiája (PEX sorozat és immunszuppresszív kezelés) az ADAMTS13 inhibitorok eltűnését és a komplement aktiváció csökkenését eredményezi.

Korábban Ruiz-Torres (173) veleszületett ADAMTS13-hiányban szenvedő és ADAMTS13-inhibitorral rendelkező TTP-s betegeket tanulmányozva arról számolt be, hogy hatból négy betegből (66%) mérsékelten csökkent a C3-szint a betegség akut fázisában, ami komplementaktivációra és consumptióra utalt. Vizsgálatunkban csak 2/13 TTP-betegnél figyeltünk meg csökkent C3 szintet az akut fázisban (**7. ábra**). A Ruiz-Torres vizsgálatban szereplő hat TTP-s beteghez képest a mi betegcsoportunkban a C3-csökkenés alacsonyabb gyakorisága a betegszelekcióval függhet össze, mivel veleszületett TTP-s beteg nem szerepelt betegeink között. Az anti-ADAMTS13 gátlók antitestek jelenléte miatt a TTP immunkomplex betegségnek is tekinthető, eredményeink lehetnek ennek a folyamatnak a következményei is. Valójában a C3a és a terminális útvonal aktiválódása és a klasszikus út aktivációja között bár gyenge volt a kapcsolat, a remisszióban perzisztáló ADAMTS13 inhibitor összefüggést mutatott a fokozott komplement aktivációval.

Korábbi irodalmi adatok és a jelenlegi megfigyeléseink azonban arra is utalhatnak, hogy TTP-ben a patogén komplement aktiváció az inhibitor miatti ADAMTS13 deficiencia

következménye. A „two hit” modell szerint az ADAMTS13 aktivitás hiánya microvascularis thrombosisra hajlamosít, de tényleges klinikai manifesztáció csak valamilyen trigger hatás következtében lép fel. Ezeknek a trigger tényezőknek a természete jelenleg kevésbé ismert, mivel a TTP-betegek túlnyomó többsége nyilvánvaló klinikai kiváltó ok nélkül lesz beteg. A potenciális kiváltó események közé tartoznak a gyakori fertőzések és a terhesség, mindkettő endothelsejt-aktiváló képességükről jól ismert, valamint fokozott az ULVWF plazmaszint, ill. a P-selectin expresszió. A fertőzések és a terhesség szintén aktiválhatja a komplement rendszert. A solubilis komplement aktivációs termékek, mediátorok, beleértve az anafilatoxinokat és az sC5b-9 terminális komplement komplexet, pedig közvetlenül aktiválhatják az endothel sejteket (183, 184), a neutrophileket (185, 186) és a thrombocytákat (187, 188) is.

A TTP-betegek plazmájáról kimutatták, hogy az endothel sejtek és a thrombocyták apoptózisát indukálja (189-192) valamint aktiválja a neutrophileket és a monocytákat (193), ami thrombocytá-leukocita komplexek kialakulásához vezet (194). Zwart és mtsai (195) igazolta, hogy a humán plazmában a komplement az apoptotikus sejtekhez kötődik, és ebben a domináns mechanizmus a klasszikus út IgM által történő aktiválása. Továbbá, a komplement aktiváció hátterében a C1q apoptotikus sejtekhez történő direkt kötődés is leírták (196).

Számos megfigyelésünk szól amellett, hogy az akut TTP-s betegekben a komplement aktivációt legalább részben a klasszikus úton indíthatják el immunkomplexek és/vagy apoptotikus sejtek. Erős korrelációt találtunk a C4d szintek (ami a klasszikus és/vagy lektin útvonal aktiválódását jelzi) és a C3a és sC5b-9 között. Ezenkívül az ADAMTS13 inhibitorok tartós jelenléte az akut szakot követően összefüggést mutatott a C4d, C3bBbP és C3a szintekkel, jelezve a klasszikus és alternatív útvonalakon keresztüli folyamatos komplementaktiváció jelenlétét (**7. ábra**). Ezenkívül a teljes remisszióban lévő TTP-betegekben az ADAMTS13 inhibitor jelenléte tendenciózusan összefüggött az emelkedett C4d szinttel. Ismeretes, hogy az ADAMTS13 inhibitorok leggyakrabban az IgG (100%), ritkábban az IgA (21%) vagy IgM (7%) osztályokba sorolhatók (76), és minden IgG alosztály előfordul. Ferrari és mtsai tanulmányában (76) a leggyakoribb kombináció (23%) az összes alosztály (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) előfordult. A humán immunglobulin osztályok és az IgG alosztályok komplementaktivációt indukáló képességükben különböznek: míg az IgG1 és IgG3 főként a klasszikus úton a C1q-n

keresztül indítja el a komplement aktivációt, addig magas epitóp-sűrűség és antitesttöbbség esetén az IgG2 az alternatív útvonalat aktiválhatja, hasonlóan az IgA-hoz (197). A Ferrari munkacsoport (75-76) arról számolt be, hogy a TTP-s betegek 82–94%-a az akut első epizódban, és a betegek 27-36%-a az ismétlődő epizódokban a IgG1, IgG2 vagy IgG3 vagy IgA inhibitor termelt, utóbbi azonban csak az IgG mellett fordult elő.

A közelmúltban koimmunprecipitációval azt is kimutatták, hogy egy refrakter beteg vérében ADAMTS13-immunglobulin komplex (ADAMTS13-specifikus IgG-IC) volt jelen és az ADAMTS13 specifikus IgG-IC fordított kinetikát mutatott a szabad ADAMTS13 specifikus IgG antitesttel és az ADAMTS13 aktivitással (198). A Ferrari munkacsoport arra a következtetésre jutott, hogy a refrakter betegekben valószínűleg az ADAMTS13 a keringő immunkomplexekben van jelen. Bár tanulmányunkban nem foglalkoztunk közvetlenül az ADAMTS13 immunkomplexekkel, a keringő ADAMTS13 immunkomplexekre vonatkozó megfigyelések (198) és a fenti saját eredményeink a klasszikus/lektin útvonalon keresztüli komplementaktiváció jelenlétére utalnak, különösen az ADAMTS13 inhibitorok tartós jelenléte esetén. Együttesen azt jelzik, hogy a keringő ADAMTS13 immunkomplexek beindíthatják a komplement aktivációt TTP-ben szenvedő betegekben, és hozzájárulhatnak a microangiopathiás folyamathoz.

Kimutattuk, hogy a plazmacsere csökkentette a gyulladást fokozó és sejtkárosításért felelős komplement aktivációs termékek szintjét. Adataink arra utalnak, hogy a komplement aktivációba mindhárom aktivációs út bekapcsolódhat és elindíthatja a közös terminális úti aktivációt. A komplett remisszióban perzisztáló inhibitor felelős lehet a komplement aktiváció fenntartásában, melyre a továbbra is emelkedett C4d, C3bBbP és C3a aktivációs termékek utalhatnak.

Cikkünk megjelenését követően számos új adat jelent meg a témával kapcsolatban, további, mélyebb betekintést engedve a patomechanizmusba.

Tati és munkacsoportja (199) C3 és C5b-9 depositumokat talált 2 TTP-s beteg glomeruláris endotheljén és a tubulusaiban, továbbá remisszióban lévő TTP-s betegek plazmájában szignifikánsan több komplementtel fedett endotheliális mikropartikulumot mértek a kontroll plazmákhoz képest. In vitro perfúziós rendszerben, nyíróerő mellett TTP-s betegek plazmájával C3 lerakódást tudtak előidézni a VWF-thrombocytá szálakon (a VWF-on és a thrombocytán is), és a histamin stimulált primer glomeruláris endothelen

egyaránt. Mindez nem jött létre, ha a betegek plazmáját EDTA-nak, hőinaktiválásnak tették ki vagy a kontrollok plazmáját használták. Pefúziós rendszerben a betegek plazmája szignifikánsan több C3-mal és C9-cel fedett endotheliális mikrorészecske felszabadulását eredményezte, mint a kontrollplazma. Ugyanez a munkacsoport shigatoxin adásával komplement depositiót (C3) tudott kiváltani ADAMTS13 deficiens (ADAMTS13^{-/-}) egerek veséjében, míg ez nem jött létre az ADAMTS13 nem-deficiens (ADAMTS13^{+/+}) egerekben és a heterozygotákban (ADAMTS13^{+/-}) sem (199).

Wu és mtsai (200) 38 inhibitoros TTP-s beteg vizsgálatánál szignifikánsan magasabb komplement aktivációt mért a meghalt betegekben, mint a túlélőknél. A meghalt betegek 30%-a cyclosporin terápiát kapott, melyről ismert, hogy mind in vitro, mind in vivo az endothelből komplement aktiváló mikropartikulákat szabadít fel, mely döntően az alternatív utat (jóval kevésbé a lektin utat és a klasszikus utat pedig egyáltalán nem) aktiválja és melyet a H faktor nem képes gátolni (201).

Ugyanez a munkacsoport (202) nemrég a remisszióban mért komplement aktiváció és a ULVWF multimerek kimutathatósága kapcsolatát vizsgálva azt találta, hogy az LDH vagy C4d csökkentette, míg az sC5b-9, C3a és C5a magasabb értékei pedig növelték az ULVWF multimerek jelenlétének valószínűségét, ami az ULVWF multimerek és a komplement aktiváció közötti kapcsolatra utal.

Westwood és mtsai (203) egy nagy esetszámú, prospektív vizsgálatban az akut szakban szignifikánsan magasabb C3a és C5a szinteket mértek. Azonban ez csak a betegek 60%-nál (C3a), ill. 70%-nál (C5a) haladta meg a normál felső értékét. Az akut és a remissziós minták összehasonlítása során az akut szakban a C3a és a C5a értéke szignifikánsan magasabb volt mind az összes minta, mind a párosított minták vizsgálatakor. Az IL-6 és IL-10 szintjét is szignifikánsan magasabbnak találták, de kóros emelkedés csak a betegek egy részénél volt kimutatható és a párosított minták esetében különbség nem volt látható. A C3a szintek korreláltak az anti-ADAMTS13 IgG-vel. Ugyancsak pozitív korrelációt találtak az ADAMTS13 IgG és LDH értékek között. Bár remisszióban mind a C3a, mind a C5a szignifikáns csökkenést mutatott (l. előbb), a kontroll mintákhoz képest a C5a értéke szignifikánsan magasabb maradt. Betegeiknél mind a 4 anti-ADAMTS13 IgG alosztály előfordult, az IgG2-es alosztály járt a legmagasabb antitest szinttel. Az anti-ADAMTS13 IgG alosztályok és a komplement aktiváció között nem találtak összefüggést, de a legmagasabb C3a szinttel rendelkező betegeknek 3 vagy 4 féle IgG

alosztály is jelen volt, alátámasztva az antitest szerepét. A Wu munkacsoporttal ellentétben, nem találtak egyértelmű összefüggést a kórkép súlyossága és a komplement aktiváció mértéke (C3a, C5a) között. Eredményeik nagyobb beteganyagon és prospektív vizsgálattal megerősítették az általunk leírt eltéréseket és hozzánk hasonlóan az inhibítor tekintették a legvalószínűbb iniciáló tényezőnek.

A Turner munkacsoport vascularis endothel sejteken kimutatta, hogy a komplement alternatív úti aktiváció komponensei (C3, FB, FD, FP, C5, FH, FI) megtalálhatók a P-selectinen keresztül az endothel sejthez kapcsolódó ún. ULVWF szálakon, ugyanakkor C4 nem volt detektálható (204).

Saját munkacsoportunk (205, 206) fordított összefüggést talált a TTP aktív szakának markerei (thrombocytaszám és haemoglobin) és a neutrophil elastase szintje között. Szoros kapcsolat volt kimutatható a plazma neutrophil elastase szint és a komplement aktivációs markerek (C3a, Bb) között, melyek szintje szignifikánsan, a kontrollokhoz hasonló értékre csökkent a plazmacsere terápia hatására remisszióban. Az eredményeink arra utaltak, hogy a TTP aktív szakában az aktivált neutrophilek által kibocsájtott ún. NET-k (neutrophil extracellular traps) valószínűleg aktivációs felületként részt vehetnek a komplement aktivációban.

Noone (207) a VWF és a komplement kölcsönhatását vizsgálták egészséges emberből származó és VWF deficiens endothel sejteken (3-as típusú von Willebrand betegségben). Arra a nem várt felfedezésre jutottak, hogy az endothel sejteken történő komplement fixáció, endothel károsodás, cytotoxicitás és thrombocytá adhesio fokozott a VWF deficiens endothel sejteken a normál endothel sejtekhez képest. Arra következtetésre jutottak, hogy a VWF-nak reguláló és protektív szerepe lenne a komplement aktiváció terén (207), bár a protektív hatás tényleges in vivo létezését mások kétségbe vonják (208).

Számos adat szól amellett, hogy a komplement aktivációhoz az endothelhez lehorgonyzott ULVWF szolgál aktivációs felszínként.

A Bettoni munkacsoport (208) szerint az összes cTTP-s beteg széruma abnormális C3 és C5b-9 depositumokat okozott ADP aktivált endothel sejteken, melyet teljes mértékben megakadályozott az rADAMTS13 ezim, anti-VWF antitest és specifikus AP inhibitorok alkalmazása. Azt találták, hogy a C3b a faktor A1, A2 és A3 doménjeivel lépett kölcsönhatásba, de az aktív C5 konvertáz kialakulása és a terminális úti aktiváció az A2-

es doménhez kötött. Consumptiora utaló alacsony C3 szintet csak a betegek kis részénél találtak, a sC5b-9 szint csak a betegek felénél volt emelkedett. Ezt azzal magyarázták, hogy a komplement aktiváció a sejtfelszínen és nem a folyadék fázisban történik. Továbbá kimutatták, hogy a komplement aktiváció során felszabaduló C5a az endothelen VWF exocytosist és THBD sheddinget vált ki, mely az endothel thromboresistenciájának csökkentésével microvascularis thrombosiszt indít el.

Zheng munkacsoportja (209) az ADAMTS13 deficiencia (ADAMTS13^{-/-}) és a H faktor homo (CFH^{R/R}) vagy heterozygota (CFH^{W/R}) mutáció kölcsönhatását vizsgálta egereken. Azt találták, hogy másodlagos trigger hiányában sem az ADAMTS13 deficiens (ADAMTS13^{-/-}) egerekben, sem a CFH heterozygota (CFH^{W/R}) egerekben nem alakult ki TMA, de a kettő kombinációja esetén igen, fokozott mortalitást eredményezve. Az ADAMTS13 deficiencia (ADAMTS13^{-/-}) és a CFH homozygota (CFH^{R/R}) mutációjának együttese pedig még súlyosabb TMA-t okozott.

Az elmúlt években a komplement aktiváció előfordulása TTP-ben egyre inkább elfogadottabbá vált. Mivel ennek fékezésére hatékony, specifikus terápiával rendelkezünk nem csoda, hogy ezt TTP-ben is kipróbálták.

Pecoraro és mtsai 2015-ben (210) ismertették egy 12 éves fiúnak az esetét, akinél tipikus klinikai tünetek és komplement aktivációra utaló labor leletek miatt atípusos HUS-t feltételezbe sürgősségi eculizumab kezelést indítottak, melyre a klinikai tünetek 3 nap alatt regrediáltak. Az eculizumab leállítási kísérletére hematológiai relapsus alakult ki vesetünetek nélkül. Az időközben elkészült ADAMTS13 aktivitás deficiens volt, de a leletek továbbra is komplement aktivációt jeleztek, ezért visszaadták az eculizumabot, mire 2 nap alatt a tünetek megint megszűntek. A kezelést 140 nap után építették le. A későbbiekben még 5 relapsust (vese és neurológiai tünet nélkül) észleltek, mindegyike azonnal reagált az eculizumab kezelésre. Az epizódokat mindig felsőlégúti infekció váltotta ki, ezért a beteg tonsilláit eltávolították, mely után több relapsus nem jelentkezett. Mivel az ADAMTS13 deficiencia hátterében inhibitort nem találtak, genetikai vizsgálatot végeztek, mely a TTP congenitalis formáját igazolta. A komplement gének vizsgálata negatív eredményt adott. A szerzők véleménye szerint, a betegnél igazolt komplement aktiváció és az ADAMTS13 deficiencia összefügghetett és az eculizumab más congenitalis TTP-s beteg esetében is hasznos lehet.

Az irodalomban eddig legalább 7 inhibitoros TTP-s beteg (211-216) komplementgátló kezelését közölték (**13. táblázat**).

13. táblázat: ADAMTS13 inhibitoros TTP-s betegek kezelése eculizumabbal							
Beteg	Klinikum	ADAMTS13 aktivitás és inhibitor	Komplement vizsgálatok	Terápia az eculizumab előtt	Terápiás válasz az eculizumabra	Nyomonkövetés	Irodalom
27 éves férfi	TMA súlyos vese és idegrendszeri tünetekkel	<5%, 6,4 U	bőrbioszia: C3d, C4d, C5b-9, CFH (E936D) anti-CFH	PEX, steroid, VCR, NAC	CR: 29.nap 54.napon: ADAMTS13: 85%	többszörös visszaesés (ADAMTS13 relapsus nélkül), eculizumabra mindig azonnali válasz	Chapin 211 Tsai (212)
24 éves afro-amerikai férfi	TMA, akut veseelégtelenség	<5%, 5 BU	homozygota CFHR3/1 deléció, anti-CFH bőrbioszia: C5b-9	PEX, steroid RTX, Cyclo, VCR	javulás csak miután az ADAMTS13 inhibitor eltűnt	dialysis independencia tartós eculizumab kezelés mellett	Atrash (213) Case 1
35 éves afro-amerikai nő	TMA, súlyos idegrendszeri tünetek (stroke)	<5%, 2,2 BU	multiplex komplement genetikai eltérések	PEX, steroid, RTX, VCR	javulás csak miután az ADAMTS13 inhibitor eltűnt	eculizumab fenntartó kezelés	Atrash (213) Case 2
64 éves afro-amerikai nő	TMA, hemi tünetek+görcs GFR:30	<5%, 1,1 BU	homozygota CFHR3/1 deléció többszörös komplement genetikai variáció	PEX, steroid, RTX	gyors javulás, 4 hét alatt ADAMTS13: 75%	6 hónapos kezelést követően eculizumab elhagyása, 2 év alatt nem volt visszaesés	Atrash (213) Case 3 Sasapu (214)
47 éves férfi	TMA, progresszív coma, myocardialis és enyhe vese érintettség	iTTP 6.relapsusa	többszörös komplement genetikai variációk	PEX, steroid, VCR, RTX	gyors javulás, 56.napon ADAMTS13: 73.8%	eculizumab elhagyható volt visszaesés nélkül	Vigna (215) Case 1
34 éves férfi	TMA, progresszív neurológiai tünetek	iTTP 4.relapsusa	többszörös komplement genetikai variációk	PEX, steroid, VCR, RTX	gyors javulás, 66.napon ADAMTS13: 57,7%	eculizumab elhagyható volt visszaesés nélkül	Vigna (215) Case 2
3 éves fiú-gyermek	TMA, enyhe proteinuria, normális vesefunkció, transzfúzióra ↓↓ Hgb és Thr	nem detektálható, inhibitor pozitív	↑ sC5b-9 homozygota CFHR3/1 deléció	nem kapott	azonnali válasz egyetlen eculizumab infúzió után, ADAMTS13 15 hónap alatt spontán normalizálódott	stabil remisszió, 2,5 év után átmeneti ↑ sC5b-9 klinikai következménye k nélkül	Bitzan (216)

ADAMTS13: a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif, member 13, BU: Bethesda egység, CFHR: H faktor related fehérjék, CR: komplett remisszió, Cyclo: cyclophosphamid, GFR: glomerulus filtrációs ráta, iTTP: inhibitoros TTP, NAC: N-acetyl cystein, PEX: plazmacsere, RTX: rituximab, TTP: thromboticus thrombocytopeniás purpura, TMA thromboticus microangiopathia, U: egység, VCR: vincristin

A betegek többvonalú terápiára (PEX, szteroid, + vincristine és/vagy rituximab és/vagy N-acetylcystein) rezisztensek voltak egy 3 éves kisgyermek kivételével. Több beteg életében már több korábbi TTP-s epizód volt. Szervi érintettség (idegrendszer, vese, szív) változatos kombinációban jelentkezett. A legtöbb betegnél fokozott komplement aktivációra utaló eltéréseket észleltek. Az ADAMTS13 aktivitás és az inhibitor kimutathatósága alapján minden beteg diagnózisa iTTP volt. Tüzetesebb vizsgálattal azonban minden betegnél lehetett valamilyen komplement genetikai variációt kimutatni, bár ezek funkcionális hatása nem minden esetben volt igazolt. Feltűnően sok (3/7) betegnél találtak homozygota CFHR3/1 deléciót anti-CFH antitesttel vagy nélküle. Minden beteg reagált a kezelésre, de ennek gyorsasága különbözött: 2 betegnél akkor vált hatásossá az eculizumab, amikor az ADAMTS13 inhibitor eltűnt, a 3 éves kisfiúnál pedig más gyógyszer nélkül adott egyetlen eculizumab dózis azonnali választ és tartós remissziót eredményezett. Ez az eset azért is különleges, mert a gyermek ADAMTS13 aktivitása is spontán normalizálódott 15 hónap alatt. Két és fél év után véletlenül újra átmenetileg emelkedett sC5b-9 szintet detektáltak nála klinikai konzekvencia nélkül. Néhány beteg az eculizumab elhagyása után relabált, ismételt adáskor azonban újra jól reagált a szerre. A legtöbb betegnél az eculizumab végül elhagyható volt.

Ezzel szemben atípusos HUS-ban Feng pont az ellenkezőjét találta (217), vagyis a betegek 80%-a hordoz legalább egy nonsynonym változást az ADAMTS13 génben és a betegek 38%-nál többszörös variáció volt kimutatható. Feltételezik, hogy ez lehet a felelős a gyakran észlelt csökkent ADAMTS13 aktivitásáért a kórképben, bár ez még további megerősítésre vár. Egy koreai munkacsoport (218) vizsgálata szerint pedig a magas normál ADAMTS13 aktivitás (>77%) aHUS-ban a terápiára adott választ, a remissziót, a korai exacerbatiót és a mortalitást is kedvezően befolyásolja.

Egészen új adat (219), hogy a MASP2 (mannose-binding lectin associated serine protease) szintet magasnak találták minden TMA-ban - beleértve a TTP akut fázisát - is a kontrollhoz viszonyítva, ami a lectin út aktivációját jelzi. In vitro kísérletben a TMA szérum által okozott caspase aktiváció blokkolható volt narsoplimab monoklonális antitesttel, amely a lectin úti aktiváció specifikus inhibitora. Pillanatnyilag még nincs adat arra, hogy az emelkedett MASP2 szint hogyan viselkedik terápia hatására, ill. remisszióban, ill. narsoplimabnak van-e terápiás hatása primer TTP-ben. Összejt-átültetéshez kapcsolódó TMA-ban viszont a narsoplimab már klinikai kipróbálás alatt áll.

A TTP kezdetben egy szinte biztosan halálos betegség volt. A 60-as évektől elindított empirikus plazmaterápia a mortalitást megfordította. Az aHUS-val való klinikai átfedés miatt sokáig a 2 kórképet ugyanazon kórkép két szélső klinikai megnyilvánulásának tartották és TTP/HUS vagy HUS/TTP-ként említették. Ezt a nézetet tovább erősítette a plazmacsere jótékony hatása a mortalitásra mindkét kórképben. Az ADAMTS13 mechanizmus felfedezésével (22, 23) a TTP egy jól definiálható kórképpé alakult, amely ezt követően az ADAMTS13 aktivitás alapján élesen elválasztható volt az aHUS-tól. Az elmúlt évtizedben azonban számos olyan új adat látott napvilágot, amely alapján ez az éles elválasztás csökkenni látszik, mivel a nem csak a labor eltérésekben és a klinikumban, de a molekuláris patomechanizmusban is számos átfedés lehetséges.

Ma már elfogadottnak vehetjük (199, 200, 203, 208, 210-213, 216), hogy komplement aktiváció a TTP-ben is zajlik és az eredményes terápia hatására csökken vagy megszűnik. Ennek igazolásában munkacsoportunknak úttörő szerepe volt.

Az állatkísérleti (209) adatok arra utalnak, hogy az ADAMTS13 és komplement rendszer kombinált defektusa elősegíti a TMA klinikai manifesztációját és ez valószínűleg nem annyira ritka (211-217), mint korábban goldoltuk. Továbbá, mindez a látszólag domináló mechanizmus alapján adott terápia rezisztenciájának háttérében is állhat (211-215). Bár a TTP kimenetelét a plazmaterápia önmagában megfordította, az autoimmun formában pedig immunszuppresszió széleskörű bevezetése tovább javította, még mindig van egy 5-15% körüli beteg, aki a folyamat aktiválódásába jelenleg is belehalhat. Ezeknél a betegeknél a komplement aktiváció vizsgálata és pozitív eredménye esetén adott komplement gátló kezelés a rezisztenciát megszüntetheti és a mortalitást csökkentheti (211-215).

5.2 A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.

a) TTP-HUS Irányelv fejlesztése

Az Irányelv 2017.01.24.én jelent meg „002019”-es azonosítószámon az Egészségügyi Közlönyben és változatlan formában az Orvosi Hetilap 2017/2. számában (p.557).

b) *A korszerű kezelési stratégia relapsusra gyakorolt hatásának vizsgálata.*

Látva több olyan saját beteget, aki deficiens aktivitása ellenére tartósan tünet és panaszmentes volt, sokáig magam is az Oklahoma Regiszter álláspontján (220, 221) voltam, vagyis hosszú ideig az elsődleges célom az volt, hogy a beteg stabil hematológiai remisszióba kerüljön. Ezen a nézeten azonban idővel változtattam, döntően betegeim kérésére, akik inkább akartak gyógyszeres kezelést, mint újra a plazmacserét és esetleges intenzív osztályos kezelést. Ebben a szemléletváltásban tovább erősített a rituximabbal történt preemptív kezelések pozitív eredménye (83, 145, 166-168).

Az akut epizód kezelése során egyre jobban törekedtünk arra, hogy a betegeknél ne csak komplett klinikai, hanem teljes ADAMTS13 remisszió is kialakuljon. Az ADAMTS13 aktivitás visszacsökkenésekor fokozatosan kezdtük alkalmazni a preemptív immunszuppresszív kezelést, amennyiben ezt a beteg elfogadta. Az immunszuppresszív terápia során minden dózis és/vagy gyógyszer váltásnak az ADAMTS13 aktivitásra gyakorolt hatását rendszeresen ellenőriztük. Emellett jelentős energiát fordítunk betegeink folyamatos edukálására is.

Előzetes eredményeink alapján az ADAMTS13 vizsgálatok eredményéhez illesztett, korszerű kezelési stratégiánk hatékonynak bizonyult a relapsusok csökkentésében, ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek a pontos okok feltárásához, valamint nagyon hosszú és nagy esetszámú nyomonkövetési vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy a relapsus megelőzésének a hosszútávú morbiditás és mortalitásra gyakorolt hatása is megbízhatóan értékelhető legyen.

5.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

A TTP-s betegek legalább egyharmada-fele az élete során egy vagy több visszaesést szenved el (159-165). Mivel a folyamat aktiválódása életveszélyt jelent a beteg számára, a nagy rizikójú betegek kiválasztásának komoly jelentősége van. Jelen publikációban 109 TTP-s beteg retrospektív értékelését végeztük el. A betegek klinikai és labor adatainak meg kellett felelni a TTP első epizódjával kapcsolatban elvárt kritériumoknak. A betegeket 2 csoportra osztottuk és 46 relabáló beteg adatait 63 nem relabáló beteg

adataival hasonlítottuk össze. A betegeknek az ADAMTS13 enzim és a VWF különböző vizsgálatait végeztük el remisszióban. Azoknál a túlélőknél, akiknél az ADAMTS13 aktivitás továbbra is deficiens maradt (<5%), közel 3-szor nagyobb eséllyel alakult ki relapsus, mint a nem deficiens enzimaktivitású betegeknek. 2007-ben Ferrari (75) egy 35 főből álló TTP-s betegcsoport 32 túlélőjét vizsgálta. Tizennyolc hónap nyomon követés során összesen a betegek 19%-nál relapsust észleltek. A remisszió elején (remisszióba kerülést követő 1 héten belül) a betegek 41%-nál az ADAMTS13 továbbra is deficiens volt, 38%-nál subnormális, de nem deficiens és mindössze 21%-nál vált normálissá. Az inhibitor csak a továbbra is deficiens betegek esetében maradt kimutatható. A relapsus szignifikánsan nagyobb számban (38,5%) fordult elő azoknál, akik aktivitása a remisszió elején még mindig deficiens volt, mint akiké meghaladta a 15%-ot. A kiindulási magas inhibitor szint, detektálható anti-ADAMTS13 antitesttel vagy nélküle, szoros összefüggést ($P < 0,05$) mutatott a remisszióban megmaradó deficiens aktivitással. A relapsusok 5-17 hónappal követték az első epizódot és a relapsusok 50%-a egy éven belül jelentkezett.

Jelen tanulmányban nagy betegszámon erősítettük meg azt a felvetést, hogy a remisszióban mért alacsony ADAMTS13 aktivitás segít megjósolni a későbbi relapsust.

Johnson és mtsai (222) nem a remissziós, hanem csak az akut szakban történt vizsgálataik alapján alátámasztotta azt a korábbi adatot (163), hogy az idiopathiás TTP első epizód alatti deficiens aktivitással járó formáit (megjegyezném, hogy ma már csak ezt hívjuk TTP-nek) fenyegeti elsősorban a relapsus, medián 63 hónap nyomon követési idő mellett betegek 43%-a esett vissza. A relapsusok többsége 1 éven belül, de a többi relapsus is 4 éven belül következett be esetükben.

Tanulmányunk eredményeit korlátozza retrospektív jellege és a vizsgált betegcsoport igen nagy mértékű heterogenitása, valamint az a tény, hogy remissziós minták levételi időpontja széles határok között változott. Sajnos, az ABBHTC-ban vizsgált betegek közel egyharmadát kellett kizárni, mivel nem állt rendelkezésre nyomon követési adat, ill. nem volt remissziós mintájuk. A küldött intézmények által felállított diagnózisokat az ABBHTC standardizált laboratóriumi és klinikai adatokra vonatkozó kérdőív alapján ellenőrizte, egyéb diagnózisok kizárása mellett.

A súlyos ADAMTS13-hiány és/vagy az anti-ADAMTS13 antitestek prediktív értéke a remisszió során mérve statisztikailag ugyan szignifikáns volt, de az esélyhányadosok

konfidencia intervallumai szélesek voltak. Nem minden betegnél fordult elő relapsus, és a relapsusok előfordultak a remisszióban nem deficiens aktivitású betegek között is.

Az ABBHTC cikk megjelenését követő néhány hónappal később Jin és mtsai (223) 24 TTP-s betegnél prospektív módon, 3 havonta, átlagosan 23 hónapon át, összesen 157 remissziós mintáján végzett vizsgálataik eredményét közölték. Azt találták, hogy 1 évnél hosszabb nyomonkövetésnél 14/19 betegnél fordult elő jelentős – több, mint ötszörös - különbség a legalacsonyabb és legmagasabb mért aktivitási érték között a stabil klinikai remisszió ellenére. Logisztikus regressziós modellt alkalmazva adataik azt mutatták, hogy az alacsonyabb ADAMTS13 aktivitás ($P=0.03$) és a fiatalabb életkor ($P=0.02$) szignifikánsan összefüggött a relapszus nagyobb kockázatával a mintavételt követő 3 hónapban. Ezzel szemben az ADAMTS13 antitest IgG szintje nem jelezte előre a TTP visszaesését.

Az ABBHTC tanulmány megjelenését követően 4 évvel később Bettoni (az első szerző, Flora Peyvandi egy másik munkacsoportja) (77) az ABBHTC által vizsgált és megerősítetten TTP-ben szenvedő 115 betegnél (ebben is benne volt a hazai betegcsoport) összefüggést keresett az auto-antitest osztály és alosztály tulajdonsága és a relapsus között. Ennek során vizsgálták az ADAMTS13 aktivitással és az ADAMTS13 antigén szinttel és a kimutatható ADAMTS13 inhibitorral kapcsolatos összefüggést is. A saját korábbi, közös eredményeinket megerősítve azt találták, hogy remisszióban a 10% alatti ADAMTS13 aktivitás, a 10 % alatti ADAMTS13 antigén szint, a kimutatható inhibitor és az antitest IgG típusa egyaránt, közel ötszöröse növeli a visszaesés valószínűségét.

A Hovinga munkacsoport (224) az Oklahoma TTP Registerbe TTP diagnózissal küldött 261 (60 ADAMTS13 deficiens, 201 nem ADAMTS13 deficiens) beteg vizsgálata során, hasonlóan Ferrari és mtsai-hoz (75), csak az akut epizód alatti ADAMTS13 deficiencia és a relapsus között találtak szignifikáns összefüggést, a remisszió alatti ADAMTS13 vizsgálataik eredménye inkonzisztens volt, így nem tudtak kimutatni egyértelmű összefüggést a remisszióban mért alacsony aktivitás és a relapsus között. Figyelemre méltó azonban az a megfigyelésük, hogy a relapsusok 63%-a 1 éven belül, 88%-a 4 éven belül jelentkezett. Számításaik szerint a visszaesés kumulatív rizikója 7,5 évnél 41% volt. Ugyanez a munkacsoport több évvel később (220, 221) többszörösen megerősítette, hogy a TTP-s betegek ADAMTS13 remissziós aktivitása spontán és ismétlődően <10%

és a normál között változhat. Az ADAMTS13 hiánya a remisszió alatt, még időszakosan is, visszaeséssel járhat. Azonban az nem volt megjósolható, hogy az ADAMTS13-hiány után bekövetkezik-e relapsus, és ha igen, az mikor fordul elő.

Az Alabama Egyetem munkatársai (225) 83 TTP-s beteg longitudinális vizsgálatánál a tartósan deficiens ADAMTS13 aktivitás és a magas anti-ADAMTS13 IgG szint 3-7 nappal a terápiás plazmacsere megkezdése után az exacerbatio vagy a relapsus kockázatával jártak. Továbbá, az alacsony plazma ADAMTS13 aktivitás és alacsony ADAMTS13 antigén vagy magas anti-ADAMTS13 IgG a klinikai válasz vagy remisszió esetén szintén előre jelezték a relapsust, eredményeinket teljes mértékben alátámasztva.

Egy nem rég megjelent olasz tanulmányban Schieppati (226) szintén hasonló eredményre jutott. Az első remisszióba kerüléskor, valamint remisszióban 3 hónapnál és 6 hónapnál egyaránt a 20% alatti ADAMTS13 aktivitás és a >15 U/mL-nél magasabb antitest szint szignifikáns összefüggést mutatott a relapsussal. Multivariancia analízissel a kettő kombinációja a független prediktív tényezőnek bizonyult, amely a visszaesés rizikóját mintegy kétszeresére növelte.

Az ABBHTC tanulmányban részt vevő magyar betegcsoport kis esetszáma sajnos nem tette lehetővé rendes statisztika végzését. Az eredményeink azonban arra utalnak, hogy a késői relapsus nem ritka, valamint remisszióban valószínűleg a deficiens, a subnormális ADAMTS13 aktivitás és az anamnesisben szereplő korábbi relapsus – mindegyik megoldatlan autoimmun mechanizmusra utal – egyaránt figyelmeztető jel lehet. A relapsus bekövetkeztének pontos idejének megjóslása azonban mind a mai napig megoldatlan.

Pillanatnyilag nincs elfogadható magyarázat arra, hogy milyen mechanizmus védi a relapsustól folyamatosan, most már közel 2 évtizede a nem relabáló betegcsoportunk egyetlen, mindvégig konzekvensen deficiens aktivitású, magas inhibitor szinttel rendelkező betegét, miközben az első epizód rendkívül súlyos volt és hosszadalmas, kombinált kezelést igényelt. Ugyanakkor az előző fejezetben ismertetett saját RÉGI betegek között több olyan beteg szerepel, akinek 2 évtized (19-24 év) tünetmentes időszakot követően jelent meg az első relapsusa.

A világ azt egyértelműen elfogadta, hogy az alacsony ADAMTS13 aktivitás növeli a relapsus esélyét, azonban abban nem volt teljes a consensus, hogy ennek van-e bármiféle

terápiás konzekvenciája. Az Oklahoma Regiszter csak az akut epizód alatti ADAMTS13 deficiencia és a relapsus közötti összefüggést tudta igazolni (163, 220, 221, 222, 224). Saját megfigyeléseik szerint az ADAMTS13 aktivitás igen jelentős fluktuációt mutatott remisszióban, ezért a deficiens aktivitás önmagában nem volt kellő trigger tényező a terápia indításához (220, 221). Más amerikai (225) és európai (77, 226) adatok ezzel ellentétben egyértelműen arra utaltak, hogy a remisszióban mért deficiens aktivitás valóban megújolja a relapsust. Mivel a TTP aktiválódása halálos kimenetelű lehet, több munkacsoport kezdte a rituximabot preemptive alkalmazni a TTP remissziójában deficiens ADAMTS 13 aktivitás esetén (83, 145, 166-168) az aktivitás normalizálására vagy legalább biztonságos tartományba történő emelésére. Ezek a tanulmányok sorra a relapsus csökkenését írták le a preemptív rituximab kezelést követően. A Francia TMA Referencia Központ legfrissebb adatai alapján (83) 92 beteg preemptív rituximab kezelése mellett a median éves relapsus ráta 0,33 epizód/évről median 0 epizód/évre csökkent. A kumulatív relapsus 15% volt 31.5 hónap nyomonkövetés során.

Mindezen eredmények további, indirekt bizonyítékként szolgálhatnak a ABBHTC tanulmányban tett állítások igazolására.

6 KÖVETKEZTETÉSEK, AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A dolgozat fontosabb megállapításai a következők:

6.1 Komplement aktiváció vizsgálata a plazmacsere során TTP-s betegeknél – közös kutatás a Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával

ELSŐKÉNT MUTATTUK KI, HOGY TTP-BEN A KOMPLEMENT AKTIVÁCIÓ AZ EREDMÉNYES PLAZMACSERE HATÁSÁRA CSÖKKEN, ILL. MEGSZŰNIK.

ELSŐKÉNT VETETTÜK FEL, HOGY A REMISSZIÓBAN FENNMARADÓ ADAMTS13 INHIBITOR A KOMPLEMENT AKTIVÁCIÓ FENNMARADÁSÁT OKOZHATJA.

Fenti eredmények az alábbi konkrét kutatási eredményekre épülnek:

- a) A C3a és sC5b9 komplement aktivációs termékek szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető a plazmacsere során (mindkettő $P < 0,05$) mind a 13 akut betegnél, mely a thrombocytaszám emelkedésével és komplett remisszió kialakulásával járt együtt.
- b) Az anti-ADAMTS13 gátló antitestek tartós jelenléte teljes remisszióban fokozott komplementaktivációval járt együtt, míg az inhibitor negatívvá váló betegek esetében megszűnt. Egyértelmű csökkenés volt megfigyelhető a C4d, C3bBbP és C3a esetében az ADAMTS13 inhibitor-negatív csoportban, míg az inhibitor pozitív csoportban ezek az aktivációs termékek szintjei nem csökkentek vagy növekedtek.

6.2 A TTP-HUS ellátás segítését célzó, hazai körülményekre adaptált, diagnosztikai és kezelési Irányelv fejlesztése. A korszerű kezelési stratégia hatásának vizsgálata a relapsusra saját betegeken az Irányelv megjelenését követő időszakban.

ELSŐKÉNT DOLGOZTUNK KI MAGYARORSZÁGON TTP-HUS TÉMAKÖRBEN A GYAKORLATI BETEGELLÁTÁST SEGÍTŐ IRÁNYELVET.

A 2017 januárban megjelent Irányelvben összesen 60 ajánlással, 1 diagnosztikai és 2 ellátási algoritmussal, valamint 10 összefoglaló táblázattal kívánjuk elérni a tudományos eredményeknek az ellátást segítő, gyakorlati implementálását.

AZ ADAMTS13 AKTIVITÁSI EREDMÉNY VEZÉRELT KORSZERŰ TERÁPIA MELLETT A DÉL-PESTI CENTRUMKÓRHÁZ APHERESIS ÉS ŐSSEJT-FELDOLGOZÓ RÉSZLEGÉN KEZELT TTP-s BETEGEK RELAPSUS RÁTÁJA AZ ELMŰLT ÖT ÉS FÉL ÉV SORÁN SZIGNIFIKÁNSAN, LEGALÁBB A FELÉRE CSÖKKENT.

Fenti eredmények az alábbi részeredményeken alapulnak:

- a) A 2017 előtt kezelt betegekhez képest a 2017 után kezelt ÖSSZES beteg relapsus rátája kevesebb, mint a felére (0,160 relapsus/év vs. 0,071 relapsus/év) (Relapse Rate Ratio: 2.2590, 95% CI: 1.32-4.05, P=0.002) csökkent.
- b) A RÉGI betegeket izoláltan vizsgálva a 2017 előtti éves relapsus ráta 0,160 relapsus/évről 2017 után 0,085 relapsus/évre, szignifikánsan, közel a felére csökkent (Relapse Rate Ratio: 1.8671, 95% CI: 1.08-3.40, P=0.02).
- c) A 2017 utáni időszakban az ÖSSZES beteget izoláltan vizsgálva jelentős, de nem szignifikáns különbséget találtunk a RÉGI és az ÚJ betegek között, mind a relapsus ráta (0,085 relapsus/év vs. 0,018 relapsus/év, Relapse Rate Ratio: 4.7780, 95% CI: 0.749-199.48, P=0.1), mind a relabáló betegek száma (14 beteg vs. 1 beteg, P=0,06) terén.
- d) Kevert Poisson regressziós modellt alkalmazva 2017 előtt a betegek nemre, korra és a megfigyelés hosszára illesztve 2.05-ször gyakrabban szenvedtek el relapsust, mint 2017 után (Incidence Rate Ratio: 2.05, 95% CI: 1.08-3.90, P=0.029).

6.3 Remisszióban mért ADAMTS13 markerek hatása a relapsusra – közös kutatás a Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjával. A magyar betegcsoport kiterjesztett nyomonkövetése napjainkig.

A MILÁNÓI EGYETEM ANGELO BIANCHI BONOMI HEMOPHILIA ÉS THROMBOSIS KÖZPONTJÁNAK MUNKACSOPORTJA ELSŐKÉNT IGAZOLTA

NAGY KLINIKAI BETEGANYAGON, HOGY A SZERZETT, AUTOIMMUN TTP AKUT EPIZÓDJÁNAK TÚLÉLŐITŐL REMISSZIÓBAN, VÁLTOZÓ IDŐPONTOKBAN VETT MINTÁKBAN KIMUTATOTT SÚLYOS ADAMTS13 HIÁNY (<10%) ÉS/VAGY AZ ANTI-ADAMTS13 ELLENES ANTITESTEK ELŐFORDULÁSA A VISSZAESÉS RIZIKÓJÁT MINTEGY 3-SZOROSÁRA NÖVELI.

Fenti eredményt az alábbi konkrét kutatási eredmények támasztják alá:

- a) Az ADAMTS13 aktivitás és az antigén medián értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak a relabáló TTP-ben szenvedő betegeknél, mint azoknál, akiknél nem volt kiújulás (aktivitás: 12% vs. 41%; $p=0,007$; antigén: 36% vs. 58%; $P=0,003$).
- b) Az ADAMTS13 aktivitás súlyos hiánya (10% vagy kevesebb) nagyobb valószínűséggel fordult elő a relabáló betegeknél (OR 2,9; 95% CI 1,3-6,8; $P=0,01$), mint a nem relabáló betegcsoportban.
- c) Az anti-ADAMTS13 antitestek szintén gyakrabban voltak kimutathatók a relabáló, mint a nem relabáló betegeknél (OR 3,1; 95% CI 1,4-7,3; $P=0,006$).
- d) A súlyos ADAMTS13-hiány remisszió alatt mintegy 2,9-szeresére (95% CI 1,3-6,8; $P=0,01$), az anti-ADAMTS13 antitest jelenléte 3,1-szeresére (95% CI 1,4-7,3; $P=0,006$), az ADAMTS13 deficiencia és a kimutatható anti-ADAMTS13 antitest együttes előfordulása pedig 3,6-szeresére (95% CI 1,4-9,0; $P=0,006$) növelte a relapsus valószínűségét.

A VIZSGÁLATOT KÖVETŐ 17 ÉVES IDŐSZAK ALATT A HAZAI BETEGEK KITERJESZTETT NYOMONKÖVETÉSI VIZSGÁLATA AZT SEJTETI, HOGY REMISSZIÓBAN A DEFICIENS, A SUBNORMÁLIS ADAMTS13 AKTIVITÁS ÉS AZ ANAMNESISBEN SZEREPLŐ RELAPSUS EGYARÁNT RIZIKÓ TÉNYEZŐ LEHET, BÁR A KIS ESETSZÁM MIATT DEFINITÍV KÖVETKEZTETÉST NEM TUDTUNK LEVONNI.

7 ÖSSZEFOGLALÁS

A Semmelweis Egyetem Komplement Diagnosztikai Laboratóriumával közös vizsgálatban munkacsoportunk TTP-s betegek mintáinak vizsgálatával megállapította, hogy a komplement aktiváció a betegek plazmacsere kezelését követően csökken vagy megszűnik. A C3a és sC5b9 komplement aktivációs termékek szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető a plazmacsere hatására mind a 13 akut betegnél, mely a thrombocytaszám emelkedésével és komplett remisszió kialakulásával járt együtt. Remisszióban egyértelmű csökkenés volt megfigyelhető a C4d, C3bBbP és C3a esetében az ADAMTS13 inhibitor negatív csoportban, míg az inhibitor pozitív csoportban ezek az aktivációs termékek szintjei nem csökkentek vagy növekedtek. Elsőként mutattunk rá arra, hogy a plazmacsere hatására a komplement aktiváció csökken vagy megszűnik, valamint, hogy a remisszióban továbbra is perzisztáló inhibitor a komplement aktivációt fenntarthatja.

Hazánkban elsőként dolgoztunk ki TTP-HUS témakörben Irányelvet. Az Irányelv összesen 60 ajánlással, 1 diagnosztikai és 2 ellátási algoritmussal, valamint 10 összefoglaló táblázattal segíti a tudományos eredmények gyakorlati implementálását.

Az ADAMTS13 aktivitási eredmény vezérelt korszerű terápia mellett a Dél-pesti Centrumkórház Apheresis és Össejt-feldolgozó Részlegén az elmúlt 5.5 év során kezelt TTP-s betegek relapsusa szignifikánsan, legalább a felére csökkent.

A Milánói Egyetem Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia és Thrombosis Központjának munkacsoportja 109 TTP-s betegről a remisszió különböző időpontjaiban vett mintáinak vizsgálatával megállapította, hogy remisszióban az ADAMTS13 deficiencia és az anti-ADAMTS13 antitestek szignifikánsan gyakrabban fordultak elő a relabáló betegeknél, mint akiknél nem fordult elő visszaesés. A munkacsoport elsőként igazolta nagy klinikai beteganyagban, hogy a súlyos ADAMTS13-hiány és/vagy az anti-ADAMTS13 antitestek előfordulása a remisszió alatt mintegy 3-szorosára növelte a relapsus valószínűségét.

A vizsgálatot követő 17 éves időszak alatt a hazai betegek kiterjesztett nyomomonkövetési vizsgálata azt sejteti, hogy remisszióban a deficiens, a subnormális ADAMTS13 aktivitás és az anamnesisben szereplő relapsus egyaránt rizikó tényező lehet, bár a kis esetszám miatt definitív következtetést nem tudtunk levonni.

8 SUMMARY

In a joint study with the Complement Diagnostic Laboratory of Semmelweis University examining TTP patients, our working group found that complement activation decreases or ceases after the patients' plasma exchange treatment. A significant decrease of the complement activation products C3a and sC5b9 was observed as a result of plasma exchange in all 13 acute patients, which was accompanied by an increase in the platelet count and the achievement of complete remission. In remission, a clear decrease was observed for C4d, C3bBbP and C3a in the ADAMTS13 inhibitor negative group. In contrast, the levels of these activation products increased or did not decrease in the inhibitor positive group. We were the first to point out that complement activation decreases or ceases as a result of plasma exchange and that an inhibitor that persists in remission can maintain complement activation.

We were the first in our country to develop a Hungarian guideline on TTP-HUS, supporting the practical implementation of scientific results with 60 recommendations, 1 diagnostic and 2 care algorithms, and 10 summary tables.

In addition to modern therapy guided by ADAMTS13 activity results, the relapse rate of TTP patients treated in the Apheresis and Stem Cell Processing Unit of the Central Hospital of Southern Pest over the past 5.5 years has been significantly reduced, at least by half.

The working group of the Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center of the University of Milan, examining samples taken from 109 TTP patients at different times of remission, found that in remission, ADAMTS13 deficiency and anti-ADAMTS13 antibodies occurred significantly more often in relapsed patients than in those who did not have a relapse. The working group was the first to demonstrate on a large clinical patient sample that the occurrence of severe ADAMTS13 deficiency and/or anti-ADAMTS13 antibodies increased the likelihood of relapse by approximately 3 times during remission.

An extended follow-up examination of Hungarian patients in 17 years post-study period suggests that in remission, deficiency, subnormal ADAMTS13 activity and relapse in the case history may all be risk factors. However, we could not draw a definitive conclusion due to the small number of cases.

9 IRODALOMJEGYZÉK

1. Moschcowitz E. (1924) Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proc. N. Y. Pathol. Soc.*, 24, 21-24.
2. Schulman I, Pierce M, Lukens A, Currimbhoy Z. (1960) Studies on thrombopoiesis, I: a factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood*. 16:943-957.
3. Upshaw JD Jr. (1978) Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N Engl J Med*. Jun 15;298(24):1350-2. doi: 10.1056/NEJM197806152982407.
4. Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R. (1955) Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien [Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia]. *Schweiz Med Wochenschr*. Sep 20;85(38-39):905-9. German.
5. Remuzzi G. (1987) HUS and TTP: variable expression of a single entity. *Kidney Int*. Aug;32(2):292-308. doi: 10.1038/ki.1987.206
6. Thompson CE, Damon LE, Ries CA, Linker CA. (1992) Thrombotic microangiopathies in the 1980s: clinical features, response to treatment, and the impact of the human immunodeficiency virus epidemic. *Blood*. Oct 15;80(8):1890-5.
7. Misiani R, Appiani AC, Edefonti A, Gotti E, Bettinelli A, Giani M, Rossi E, Remuzzi G, Mecca G. (1982) Haemolytic uraemic syndrome: therapeutic effect of plasma infusion. *Br Med J (Clin Res Ed)*. Nov 6;285(6351):1304-6. doi: 10.1136/bmj.285.6351.1304.
8. Singer K, Bornstein FP, Wile SA. (1947) Thrombotic thrombocytopenic purpura; hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses. *Blood*. 1947 Nov;2(6):542-54.
9. Symmers WSTC. (1952) Thrombotic microangiopathic haemolytic anaemia (thrombotic microangiopathy). *Br Med J*. Oct 25;2(4790):897-903. doi: 10.1136/bmj.2.4790.897.

10. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, Coppo R, Emma F, Johnson S, Karpman D, Landau D, Langman CB, Lapeyraque AL, Licht C, Nester C, Pecoraro C, Riedl M, van de Kar NC, Van de Walle J, Vivarelli M, Frémeaux-Bacchi V; HUS International. (2016) An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* Jan;31(1):15-39. doi: 10.1007/s00467-015-3076-8
11. Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. (2011) Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* Sep 8;6:60. doi: 10.1186/1750-1172-6-60.
12. Petitt RM. (1980) Thrombotic thrombocytopenic purpura: a thirty year review. *Semin Thromb Hemost.*6(4):350-5. doi: 10.1055/s-2007-1005108.
13. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. (2019) An update on pathogenesis and diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Expert Rev Hematol.* Jun;12(6):383-395. doi: 10.1080/17474086.2019.1611423. Epub 2019 May 20.
14. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colannino NM, Azocar J, Seder RH, Hong SL, Deykin D. (1982) Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* Dec 2;307(23):1432-5. doi: 10.1056/NEJM198212023072306.
15. Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco LH, Hellums JD. (1986) Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest.* Dec;78(6):1456-61. doi: 10.1172/JCI112736.
16. Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi T, Suzumiya J, Kaketani K. (1985) Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. *Thromb Res.* Jun 1;38(5):469-79. doi: 10.1016/0049-3848(85)90180-x.
17. Tsai HM, Sussman II, Nagel RL. (1994) Shear stress enhances the proteolysis of von Willebrand factor in normal plasma. *Blood.* Apr 15;83(8):2171-9.
18. Furlan M, Robles R, Lämmle B. (1996) Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood.* May 15;87(10):4223-34.

19. Tsai HM. (1996) Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood*. May 15;87(10):4235-44.
20. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Wassmer M, Sandoz P, Lämmle B. (1997) Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. May 1;89(9):3097-103.
21. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Lämmle B. (1998) Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Apr 15;91(8):2839-46.
22. Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharrer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lämmle B. (1998) von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. Nov 26;339(22):1578-84. doi: 10.1056/NEJM199811263392202.
23. Tsai HM, Lian EC. (1998) Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*. Nov 26;339(22):1585-94. doi: 10.1056/NEJM199811263392203.
24. Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. (2001) Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood*. Sep 15;98(6):1662-6. doi: 10.1182/blood.v98.6.1662.
25. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw JD Jr, Ginsburg D, Tsai HM. (2001) Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. Oct 4;413(6855):488-94. doi: 10.1038/35097008.
26. Levy GG, Motto DG, Ginsburg D. (2005) ADAMTS13 turns 3. *Blood*. Jul 1;106(1):11-7. doi: 10.1182/blood-2004-10-4097.
27. Sadler JE. (1998) Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem*.;67:395-424. doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.395.

28. Kawecki C, Lenting PJ, Denis CV. (2017) von Willebrand factor and inflammation. *J Thromb Haemost.* Jul;15(7):1285-1294. doi: 10.1111/jth.13696.
29. Starke RD, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden NH, McKinnon TA, Sutton RE, Payne EM, Haskard DO, Hughes AD, Cutler DF, Laffan MA, Randi AM. (2011) Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood.* Jan 20;117(3):1071-80. doi: 10.1182/blood-2010-01-264507.
30. Zhou YF, Eng ET, Zhu J, Lu C, Walz T, Springer TA. (2012) Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. *Blood.* Jul 12;120(2):449-58. doi: 10.1182/blood-2012-01-405134.
31. Ruggeri ZM. (2003) Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. *J Thromb Haemost.* Jul;1(7):1335-42. doi: 10.1046/j.1538-7836.2003.00260.x.
32. Ulrichs H, Udvardy M, Lenting PJ, Pareyn I, Vandeputte N, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. (2006) Shielding of the A1 domain by the D'D3 domains of von Willebrand factor modulates its interaction with platelet glycoprotein Ib-IX-V. *J Biol Chem.* Feb 24;281(8):4699-707. doi: 10.1074/jbc.M513314200.
33. Flood VH, Schlauderaff AC, Haberichter SL, Slobodianuk TL, Jacobi PM, Bellissimo DB, Christopherson PA, Friedman KD, Gill JC, Hoffmann RG, Montgomery RR; Zimmerman Program Investigators. (2015) Crucial role for the VWF A1 domain in binding to type IV collagen. *Blood.* Apr 2;125(14):2297-304. doi: 10.1182/blood-2014-11-610824
34. Hoylaerts MF, Yamamoto H, Nuyts K, Vreys I, Deckmyn H, Vermylen J. (1997) von Willebrand factor binds to native collagen VI primarily via its A1 domain. *Biochem J.* May 15;324 (Pt 1)(Pt 1):185-91. doi: 10.1042/bj3240185.
35. Sandoval-Pérez A, Berger RML, Garaizar A, Farr SE, Brehm MA, König G, Schneider SW, Collepardo-Guevara R, Huck V, Rädler JO, Aponte-Santamaría C. (2020) DNA binds to a specific site of the adhesive blood-protein von Willebrand factor guided by electrostatic interactions. *Nucleic Acids Res.* Jul 27;48(13):7333-7344. doi: 10.1093/nar/gkaa466. Erratum in: *Nucleic Acids Res.* 2020 Nov 18;48(20):11812-11813.

36. Shahbazi S, Lenting PJ, Fribourg C, Terraube V, Denis CV, Christophe OD. (2007) Characterization of the interaction between von Willebrand factor and osteoprotegerin. *J Thromb Haemost. Sep*;5(9):1956-62. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02681.x.
37. Sobel M, McNeill PM, Carlson PL, Kermode JC, Adelman B, Conroy R, Marques D. (1991) Heparin inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function in vitro and in vivo. *J Clin Invest. May*;87(5):1787-93. doi: 10.1172/JCI115198.
38. Zhang Q, Zhou YF, Zhang CZ, Zhang X, Lu C, Springer TA. (2009) Structural specializations of A2, a force-sensing domain in the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Jun 9*;106(23):9226-31. doi: 10.1073/pnas.0903679106.
39. Huizinga EG, Martijn van der Plas R, Kroon J, Sixma JJ, Gros P. (1997) Crystal structure of the A3 domain of human von Willebrand factor: implications for collagen binding. *Structure. Sep 15*;5(9):1147-56. doi: 10.1016/s0969-2126(97)00266-9.
40. Mojzisch A, Brehm MA. (2021) The Manifold Cellular Functions of von Willebrand Factor. *Cells. Sep 8*;10(9):2351. doi: 10.3390/cells10092351.
41. McKinnon TA, Goode EC, Birdsey GM, Nowak AA, Chan AC, Lane DA, Laffan MA. (2010) Specific N-linked glycosylation sites modulate synthesis and secretion of von Willebrand factor. *Blood. Jul 29*;116(4):640-8. doi: 10.1182/blood-2010-02-267450.
42. Nowak AA, Canis K, Riddell A, Laffan MA, McKinnon TA. (2012) O-linked glycosylation of von Willebrand factor modulates the interaction with platelet receptor glycoprotein Ib under static and shear stress conditions. *Blood. Jul 5*;120(1):214-22. doi: 10.1182/blood-2012-02-410050.
43. McKinnon TA, Chion AC, Millington AJ, Lane DA, Laffan MA. (2008) N-linked glycosylation of VWF modulates its interaction with ADAMTS13. *Blood. Mar 15*;111(6):3042-9. doi: 10.1182/blood-2007-06-095042.
44. Matsui T, Titani K, Mizuochi T. (1992) Structures of the asparagine-linked oligosaccharide chains of human von Willebrand factor. Occurrence of blood group A, B, and H(O) structures. *J Biol Chem. May 5*;267(13):8723-31.

45. Zhou YF, Eng ET, Nishida N, Lu C, Walz T, Springer TA. (2011) A pH-regulated dimeric bouquet in the structure of von Willebrand factor. *EMBO J.* Aug 19;30(19):4098-111. doi: 10.1038/emboj.2011.297.
46. Valentijn KM, Sadler JE, Valentijn JA, Voorberg J, Eikenboom J. (2011) Functional architecture of Weibel-Palade bodies. *Blood.* May 12;117(19):5033-43. doi: 10.1182/blood-2010-09-267492.
47. Nightingale T, Cutler D. (2013) The secretion of von Willebrand factor from endothelial cells; an increasingly complicated story. *J Thromb Haemost.* Jun;11 Suppl 1(Suppl 1):192-201. doi: 10.1111/jth.12225.
48. Valentijn KM, van Driel LF, Mourik MJ, Hendriks GJ, Arends TJ, Koster AJ, Valentijn JA. (2010) Multigranular exocytosis of Weibel-Palade bodies in vascular endothelial cells. *Blood.* Sep 9;116(10):1807-16. doi: 10.1182/blood-2010-03-274209.
49. Babich V, Meli A, Knipe L, Dempster JE, Skehel P, Hannah MJ, Carter T. (2008) Selective release of molecules from Weibel-Palade bodies during a lingering kiss. *Blood.* Jun 1;111(11):5282-90. doi: 10.1182/blood-2007-09-113746.
50. Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN, Schade AJ, McIntire LV, Fujikawa K, López JA. (2002) ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. *Blood.* Dec 1;100(12):4033-9. doi: 10.1182/blood-2002-05-1401.
51. Feys HB, Anderson PJ, Vanhoorelbeke K, Majerus EM, Sadler JE. (2009) Multistep binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *J Thromb Haemost.* Dec;7(12):2088-95. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03620.x.
52. Crawley JT, de Groot R, Xiang Y, Luken BM, Lane DA. (2011) Unraveling the scissile bond: how ADAMTS13 recognizes and cleaves von Willebrand factor. *Blood.* Sep 22;118(12):3212-21. doi: 10.1182/blood-2011-02-306597.
53. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong JF. (2004) Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood.* Jul 1;104(1):100-6. doi: 10.1182/blood-2004-01-0107.

54. Studt JD, Kremer Hovinga JA, Antoine G, Hermann M, Rieger M, Scheiflinger F, Lämmle B. (2005) Fatal congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with apparent ADAMTS13 inhibitor: in vitro inhibition of ADAMTS13 activity by hemoglobin. *Blood*. Jan 15;105(2):542-4. doi: 10.1182/blood-2004-06-2096.
55. Crawley JT, Lam JK, Rance JB, Mollica LR, O'Donnell JS, Lane DA. (2005) Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by thrombin and plasmin. *Blood*. Feb 1;105(3):1085-93. doi: 10.1182/blood-2004-03-1101.
56. Garland KS, Reitsma SE, Shirai T, Zilberman-Rudenko J, Tucker EI, Gailani D, Gruber A, McCarty OJT, Puy C. (2017) Removal of the C-Terminal Domains of ADAMTS13 by Activated Coagulation Factor XI induces Platelet Adhesion on Endothelial Cells under Flow Conditions. *Front Med (Lausanne)*. Dec 20;4:232. doi: 10.3389/fmed.2017.00232.
57. Zhang X, Halvorsen K, Zhang CZ, Wong WP, Springer TA. (2009) Mechanoenzymatic cleavage of the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Science*. Jun 5;324(5932):1330-4. doi: 10.1126/science.1170905.
58. South K, Luken BM, Crawley JT, Phillips R, Thomas M, Collins RF, Deforche L, Vanhoorelbeke K, Lane DA. (2014) Conformational activation of ADAMTS13. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 30;111(52):18578-83. doi: 10.1073/pnas.1411979112.
59. Petri A, Kim HJ, Xu Y, de Groot R, Li C, Vandenbulcke A, Vanhoorelbeke K, Emsley J, Crawley JTB. (2019) Crystal structure and substrate-induced activation of ADAMTS13. *Nat Commun*. Aug 22;10(1):3781. doi: 10.1038/s41467-019-11474-5.
60. Muia J, Zhu J, Gupta G, Haberichter SL, Friedman KD, Feys HB, Deforche L, Vanhoorelbeke K, Westfield LA, Roth R, Tolia NH, Heuser JE, Sadler JE. (2014) Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 30;111(52):18584-9. doi: 10.1073/pnas.1413282112.
61. Furlan M, Robles R, Morselli B, Sandoz P, Lämmle B. (1999) Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost*. Jan;81(1):8-13.

62. Davis AK, Makar RS, Stowell CP, Kuter DJ, Dzik WH. (2009) ADAMTS13 binds to CD36: a potential mechanism for platelet and endothelial localization of ADAMTS13. *Transfusion*. Feb;49(2):206-13. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01978.x.
63. George JN. (2009) ADAMTS13: what it does, how it works, and why it's important. *Transfusion*. Feb;49(2):196-8. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.02060.x.
64. Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kato H, Tomiyama Y, Miyata T. (2006) Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Apr 15;107(8):3161-6. doi: 10.1182/blood-2005-07-2765.
65. Thomas MR, de Groot R, Scully MA, Crawley JT. (2015) Pathogenicity of Anti-ADAMTS13 Autoantibodies in Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *EBioMedicine*. Jun 11;2(8):942-52. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.06.007.
66. Zheng XL, Wu HM, Shang D, Falls E, Skipwith CG, Cataland SR, Bennett CL, Kwaan HC. (2010) Multiple domains of ADAMTS13 are targeted by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*. Sep;95(9):1555-62. doi: 10.3324/haematol.2009.019299.
67. Klaus C, Plaimauer B, Studt JD, Dorner F, Lämmle B, Mannucci PM, Scheiflinger F. (2004) Epitope mapping of ADAMTS13 autoantibodies in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Jun 15;103(12):4514-9. doi: 10.1182/blood-2003-12-4165.
68. Luken BM, Turenhout EA, Hulstein JJ, Van Mourik JA, Fijnheer R, Voorberg J. (2005) The spacer domain of ADAMTS13 contains a major binding site for antibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost*. Feb;93(2):267-74. doi: 10.1160/TH04-05-0301.
69. Velásquez Pereira LC, Roose E, Graça NAG, Sinkovits G, Kangro K, Joly BS, Tellier E, Kaplanski G, Falter T, Von Auer C, Rossmann H, Feys HB, Reti M, Prohászka Z, Lämmle B, Voorberg J, Coppo P, Veyradier A, De Meyer SF, Männik A, Vanhoorelbeke K. (2021) Immunogenic hotspots in the spacer domain of

- ADAMTS13 in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* Feb;19(2):478-488. doi: 10.1111/jth.15170.
70. Pos W, Crawley JT, Fijnheer R, Voorberg J, Lane DA, Luken BM. (2010) An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood.* Feb 25;115(8):1640-9. doi: 10.1182/blood-2009-06-229203.
 71. Casina VC, Hu W, Mao JH, Lu RN, Hanby HA, Pickens B, Kan ZY, Lim WK, Mayne L, Ostertag EM, Kacir S, Siegel DL, Englander SW, Zheng XL. (2015) High-resolution epitope mapping by HX MS reveals the pathogenic mechanism and a possible therapy for autoimmune TTP syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Aug 4;112(31):9620-5. doi: 10.1073/pnas.1512561112.
 72. Kangro K, Roose E, Joly BS, Sinkovits G, Falter T, von Auer C, Rossmann H, Reti M, Voorberg J, Prohászka Z, Lämmle B, Coppo P, Veyradier A, De Meyer SF, Männik A, Vanhoorelbeke K. (2021) Anti-ADAMTS13 autoantibody profiling in patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv.* Sep 14;5(17):3427-3435. doi: 10.1182/bloodadvances.2020004172.
 73. Graça NAG, Ercig B, Carolina Velásquez Pereira L, Kangro K, Kaijen P, Nicolaes GAF, Veyradier A, Coppo P, Vanhoorelbeke K, Männik A, Voorberg J. (2020) Modifying ADAMTS13 to modulate binding of pathogenic autoantibodies of patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* Nov 1;105(11):2619-2630. doi: 10.3324/haematol.2019.226068.
 74. Rieger M, Mannucci PM, Kremer Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbauer G, Konetschny C, Zimmermann K, Scharrer I, Peyvandi F, Galbusera M, Remuzzi G, Böhm M, Plaimauer B, Lämmle B, Scheiflinger F. (2005) ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood.* Aug 15;106(4):1262-7. doi: 10.1182/blood-2004-11-4490.
 75. Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, Mudde G, Wolf M, Coppo P, Girma JP, Azoulay E, Brun-Buisson C, Fakhouri F, Mira JP, Oksenhendler E, Poullin P, Rondeau E, Schleinitz N, Schlemmer B, Teboul JL, Vanhille P, Vernant JP, Meyer D, Veyradier A; French Clinical and Biological Network on Adult Thrombotic

- Microangiopathies. (2007) Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood*. Apr 1;109(7):2815-22. doi: 10.1182/blood-2006-02-006064.
76. Ferrari S, Mudde GC, Rieger M, Veyradier A, Kremer Hovinga JA, Scheifflinger F. (2009) IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Oct;7(10):1703-10. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03568.x.
77. Bettoni G, Palla R, Valsecchi C, Consonni D, Lotta LA, Trisolini SM, Mancini I, Musallam KM, Rosendaal FR, Peyvandi F. (2012) ADAMTS-13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Aug;10(8):1556-65. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04808.x
78. Sinkovits G, Szilágyi Á, Farkas P, Inotai D, Szilvási A, Tordai A, Rázsó K, Réti M, Prohászka Z. (2018) Concentration and Subclass Distribution of Anti-ADAMTS13 IgG Autoantibodies in Different Stages of Acquired Idiopathic Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Front Immunol*. Jul 16;9:1646. doi: 10.3389/fimmu.2018.01646.
79. Grillberger R, Casina VC, Turecek PL, Zheng XL, Rottensteiner H, Scheifflinger F. (2014) Anti-ADAMTS13 IgG autoantibodies present in healthy individuals share linear epitopes with those in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*. Apr;99(4):e58-60. doi: 10.3324/haematol.2013.100685.
80. Konecny I. (2020) Update on IgG4-mediated autoimmune diseases: New insights and new family members. *Autoimmun Rev*. Oct;19(10):102646. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102646.
81. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J, Greinacher A, Deckmyn H, De Meyer SF, Coppo P, Veyradier A, Vanhoorelbeke K. (2018) An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Feb;16(2):378-388. doi: 10.1111/jth.13922.

82. Roose E, Schelpe AS, Tellier E, Sinkovits G, Joly BS, Dekimpe C, Kaplanski G, Le Besnerais M, Mancini I, Falter T, Von Auer C, Feys HB, Reti M, Rossmann H, Vandebulcke A, Pareyn I, Voorberg J, Greinacher A, Benhamou Y, Deckmyn H, Fijnheer R, Prohászka Z, Peyvandi F, Lämmle B, Coppo P, De Meyer SF, Veyradier A, Vanhoorelbeke K. (2020) Open ADAMTS13, induced by antibodies, is a biomarker for subclinical immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Jul 16;136(3):353-361. doi: 10.1182/blood.2019004221.
83. Jestin M, Benhamou Y, Schelpe AS, Roose E, Provôt F, Galicier L, Hié M, Presne C, Poullin P, Wynckel A, Saheb S, Deligny C, Servais A, Girault S, Delmas Y, Kanouni T, Lautrette A, Chauveau D, Mousson C, Perez P, Halimi JM, Charvet-Rumpler A, Hamidou M, Cathébras P, Vanhoorelbeke K, Veyradier A, Coppo P; French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. (2018) Preemptive rituximab prevents long-term relapses in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Nov 15;132(20):2143-2153. doi: 10.1182/blood-2018-04-840090.
84. Crawley JT, de Groot R, Luken BM. (2009) Circulating ADAMTS-13-von Willebrand factor complexes: an enzyme on demand. *J Thromb Haemost*. Dec;7(12):2085-7. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03621.x
85. de Laat B, van Berkel M, Urbanus RT, Siregar B, de Groot PG, Gebbink MF, Maas C. (2011) Immune responses against domain I of $\beta(2)$ -glycoprotein I are driven by conformational changes: domain I of $\beta(2)$ -glycoprotein I harbors a cryptic immunogenic epitope. *Arthritis Rheum*. Dec;63(12):3960-8. doi: 10.1002/art.30633.
86. Helm CA, Weitschies W, Greinacher A, Delcea M. (2014) Binding of anti-platelet factor 4/heparin antibodies depends on the thermodynamics of conformational changes in platelet factor 4. *Blood*. Oct 9;124(15):2442-9. doi: 10.1182/blood-2014-03-559518.
87. Ercig B, Arfman T, Hrdinova J, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Vanhoorelbeke K, Nicolaes GAF, Voorberg J. (2021) Conformational plasticity of ADAMTS13 in hemostasis and autoimmunity. *J Biol Chem*. Oct;297(4):101132. doi: 10.1016/j.jbc.2021.101132.

88. Pereira MS, Alves I, Vicente M, Campar A, Silva MC, Padrão NA, Pinto V, Fernandes Â, Dias AM, Pinho SS. (2018) Glycans as Key Checkpoints of T Cell Activity and Function. *Front Immunol.* Nov 27;9:2754. doi: 10.3389/fimmu.2018.02754.
89. Roriz M, Landais M, Desprez J, Barbet C, Azoulay E, Galicier L, Wynckel A, Baudel JL, Provôt F, Pène F, Mira JP, Presne C, Poullin P, Delmas Y, Kanouni T, Seguin A, Mousson C, Servais A, Bordessoule D, Perez P, Chauveau D, Veyradier A, Halimi JM, Hamidou M, Coppo P; French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. (2015) Risk Factors for Autoimmune Diseases Development After Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Medicine (Baltimore).* Oct;94(42):e1598. doi: 10.1097/MD.0000000000001598
90. Hassan A, Iqbal M, George JN. (2019) Additional autoimmune disorders in patients with acquired autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol.* Jun;94(6):E172-E174. doi: 10.1002/ajh.25466.
91. Scully M, Brown J, Patel R, McDonald V, Brown CJ, Machin S. (2010) Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *J Thromb Haemost.* Feb;8(2):257-62. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03692.x.
92. Coppo P, Busson M, Veyradier A, Wynckel A, Poullin P, Azoulay E, Galicier L, Loiseau P; French Reference Centre For Thrombotic Microangiopathies. (2010) HLA-DRB1*11: a strong risk factor for acquired severe ADAMTS13 deficiency-related idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura in Caucasians. *J Thromb Haemost.* Apr;8(4):856-9. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.03772.x.
93. John ML, Hitzler W, Scharrer I. (2012) The role of human leukocyte antigens as predisposing and/or protective factors in patients with idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol.* Apr;91(4):507-10. doi: 10.1007/s00277-011-1384-z.
94. Joseph G, Smith KJ, Hadley TJ, Djulbegovic B, Troup GM, Oldfather J, Barker RL. (1994) HLA-DR53 protects against thrombotic thrombocytopenic purpura/adult hemolytic uremic syndrome. *Am J Hematol.* Nov;47(3):189-93. doi: 10.1002/ajh.2830470308.

95. Sinkovits G, Szilágyi Á, Farkas P, Inotai D, Szilvási A, Tordai A, Rázsó K, Réti M, Prohászka Z. (2017) The role of human leukocyte antigen DRB1-DQB1 haplotypes in the susceptibility to acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hum Immunol.* Feb;78(2):80-87. doi: 10.1016/j.humimm.2016.11.005.
96. Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Ohshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. (2020) HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood.* Jun 25;135(26):2413-2419. doi: 10.1182/blood.2020005395.
97. Arango MT, Perricone C, Kivity S, Cipriano E, Ceccarelli F, Valesini G, Shoenfeld Y. (2017) HLA-DRB1 the notorious gene in the mosaic of autoimmunity. *Immunol Res.* Feb;65(1):82-98. doi: 10.1007/s12026-016-8817-7.
98. Hrdinová J, D'Angelo S, Graça NAG, Ercig B, Vanhoorelbeke K, Veyradier A, Voorberg J, Coppo P. (2018) Dissecting the pathophysiology of immune thrombotic thrombocytopenic purpura: interplay between genes and environmental triggers. *Haematologica.* Jul;103(7):1099-1109. doi: 10.3324/haematol.2016.151407. Epub 2018 Apr 19. Erratum in: *Haematologica.* 2021 Mar 01;106(3):924.
99. Rojas M, Restrepo-Jiménez P, Monsalve DM, Pacheco Y, Acosta-Ampudia Y, Ramírez-Santana C, Leung PSC, Ansari AA, Gershwin ME, Anaya JM. (2018) Molecular mimicry and autoimmunity. *J Autoimmun.* Dec;95:100-123. doi: 10.1016/j.jaut.2018.10.012.
100. Laghmouchi A, Graça NAG, Voorberg J. (2021) Emerging Concepts in Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Front Immunol.* Nov 11;12:757192. doi: 10.3389/fimmu.2021.757192.
101. De Luca F, Shoenfeld Y. (2019) The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol.* Jan;195(1):74-85. doi: 10.1111/cei.13158.
102. Andeweg SP, Keşmir C, Dutilh BE. (2021) Quantifying the Impact of Human Leukocyte Antigen on the Human Gut Microbiota. *mSphere.* Aug 25;6(4):e0047621. doi: 10.1128/mSphere.00476-21.

103. Hughes GC, Choubey D. (2014) Modulation of autoimmune rheumatic diseases by oestrogen and progesterone. *Nat Rev Rheumatol.* Dec;10(12):740-51. doi: 10.1038/nrrheum.2014.144.
104. Wallace DC, Lovric A, Clubb JS, Carseldine DB. (1975) Thrombotic thrombocytopenic purpura in four siblings. *Am J Med.* May;58(5):724-34. doi: 10.1016/0002-9343(75)90510-0.
105. Réti M, Sinkovits G, Cseprekál O, Csuka D, Szilágyi Á, Farkas Z, Klucsik Z, Szederjesi A, Wágner L, Reusz G, Hovinga JAK, Rigó J, Masszi T, Prohászka Z. (2018) Description of the First Cases with ADAMTS13 Mutations in Hungary. *Blood* 132 (Supplement 1): 5003. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-118327>
106. Alwan F, Vendramin C, Liesner R, Clark A, Lester W, Dutt T, Thomas W, Gooding R, Biss T, Watson HG, Cooper N, Rayment R, Cranfield T, van Veen JJ, Hill QA, Davis S, Motwani J, Bhatnagar N, Priddee N, David M, Crowley MP, Alamelu J, Lyall H, Westwood JP, Thomas M, Scully M. (2019) Characterization and treatment of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Apr 11;133(15):1644-1651. doi: 10.1182/blood-2018-11-884700.
107. Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, Poullin P, Malot S, Vanhille P, Azoulay E, Galicier L, Lemiale V, Mira JP, Ridet C, Rondeau E, Pourrat J, Girault S, Bordessoule D, Saheb S, Ramakers M, Hamidou M, Vernant JP, Guidet B, Wolf M, Veyradier A; French Reference Center for Thrombotic Microangiopathies. (2010) Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One.* Apr 23;5(4):e10208. doi: 10.1371/journal.pone.0010208.
108. Weil EL, Rabinstein AA. (2021) Neurological manifestations of thrombotic microangiopathy syndromes in adult patients. *J Thromb Thrombolysis.* May;51(4):1163-1169. doi: 10.1007/s11239-021-02431-5.
109. Aksay E, Kiyani S, Ersel M, Hudaverdi O. (2006) Thrombotic thrombocytopenic purpura mimicking acute ischemic stroke. *Emerg Med J.* Sep;23(9):e51. doi: 10.1136/emj.2006.036327.

110. Beltrami-Moreira M, DeSancho MT. (2022) Delayed diagnosis of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura in a patient with recurrent strokes. *J Thromb Thrombolysis*. Apr;53(3):734-738. doi: 10.1007/s11239-021-02629-7.
111. Ali MA, Shaheen JS, Khan MA. (2014) Acute pancreatitis induced thrombotic thrombocytopenic purpura. *Indian J Crit Care Med*. Feb;18(2):107-9. doi: 10.4103/0972-5229.126084.
112. Foguem C, Boruchowicz A, Cuingnet P, Kyndt X. (2013) Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) leading to pseudotumour's autoimmune pancreatitis (AIP): a case report. *Pancreatology*. Jan-Feb;13(1):90-4. doi: 10.1016/j.pan.2012.11.304.
113. See JR, Sabagh T, Barde CJ. (2013) Thrombotic thrombocytopenic purpura: a case presenting with acute ischemic colitis. *Case Rep Hematol*. 2013:592930. doi: 10.1155/2013/592930.
114. Wiernek SL, Jiang B, Gustafson GM, Dai X. (2018) Cardiac implications of thrombotic thrombocytopenic purpura. *World J Cardiol*. Dec 26;10(12):254-266. doi: 10.4330/wjc.v10.i12.254.
115. Booth KK, Terrell DR, Vesely SK, George JN. (2011) Systemic infections mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*. Sep;86(9):743-51. doi: 10.1002/ajh.22091.
116. Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, Cheung B, Machin SJ; British Committee for Standards in Haematology. (2012) Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol*. Aug;158(3):323-35. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09167.x.
117. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H; International Working Group for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. (2017) Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost*. Feb;15(2):312-322. doi: 10.1111/jth.13571.

118. Bendapudi PK, Hurwitz S, Fry A, Marques MB, Waldo SW, Li A, Sun L, Upadhyay V, Hamdan A, Brunner AM, Gansner JM, Viswanathan S, Kaufman RM, Uhl L, Stowell CP, Dzik WH, Makar RS. (2017) Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Lancet Haematol.* Apr;4(4):e157-e164. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30026-1.
119. Bommer M, Wölfle-Guter M, Bohl S, Kuchenbauer F. (2018) The Differential Diagnosis and Treatment of Thrombotic Microangiopathies. *Dtsch Arztebl Int.* May 11;115(19):327-334. doi: 10.3238/arztebl.2018.0327.
120. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. (2004) Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* Aug;8(4):R204-12. doi: 10.1186/cc2872.
121. Creager AJ, Brecher ME, Bandarenko N. (1998) Thrombotic thrombocytopenic purpura that is refractory to therapeutic plasma exchange in two patients with occult infection. *Transfusion.* May;38(5):419-23. doi: 10.1046/j.1537-2995.1998.38598297208.x.
122. Gringauz I, Carmel-Neiderman NN, Mangel T, Portnoy O, Segal G, Goren I. (2016) Marked Improvement in Refractory TTP Directly after H. pylori Eradication Therapy. *Case Rep Hematol.* 2016:1568586. doi: 10.1155/2016/1568586.
123. Bailey M, Maestas T, Betancourt R, Mikhael D, Babiker HM. (2019) A Rare Cause of Thrombotic Thrombocytopenia Purpura- (TTP-) Like Syndrome, Vitamin B12 Deficiency: Interpretation of Significant Pathological Findings. *Case Rep Hematol.* Mar 18;2019:1529306. doi: 10.1155/2019/1529306.
124. Amorosi EL, Ultmann JE. (1966) Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine March* Volume 45. Issue 2 p.139-160.
125. Rubinstein MA, Kagan BM, MacGillviray MH, Merliss R, Sacks H. (1959). Unusual remission in a case of thrombotic thrombocytopenic purpura syndrome

- following fresh blood exchange transfusions. *Ann Intern Med.* Dec;51:1409-19. doi: 10.7326/0003-4819-51-6-1409.
126. Bukowski RM, Hewlett JS, Harris JW, Hoffman GC, Battle JD Jr, Silverblatt E, Yang IY. (1976) Exchange transfusions in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol.* Jul;13(3):219-32.
 127. Byrnes JJ, Khurana M. (1977) Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with plasma. *N Engl J Med.* Dec 22;297(25):1386-9. doi: 10.1056/NEJM197712222972507.
 128. Bukowski RM, King JW, Hewlett JS. (1977) Plasmapheresis in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Sep;50(3):413-7.
 129. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. (1991) Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med.* Aug 8;325(6):393-7. doi: 10.1056/NEJM199108083250604.
 130. Henon P. (1991) Traitement du purpura thrombotique thrombopénique. Résultats d'une étude clinique multicentrique randomisée. GFEM (Groupe Français d'Etude Multicentrique sur le PTT) [Treatment of thrombotic thrombopenic purpura. Results of a multicenter randomized clinical study]. *Presse Med.* Nov 9;20(36):1761-7. French.
 131. Nguyen L, Li X, Duvall D, Terrell DR, Vesely SK, George JN. (2008) Twice-daily plasma exchange for patients with refractory thrombotic thrombocytopenic purpura: the experience of the Oklahoma Registry, 1989 through 2006. *Transfusion.* Feb;48(2):349-57. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01530.x.
 132. Go RS, Winters JL, Leung N, Murray DL, Willrich MA, Abraham RS, Amer H, Hogan WJ, Marshall AL, Sethi S, Tran CL, Chen D, Pruthi RK, Ashrani AA, Fervenza FC, Cramer CH 2nd, Rodriguez V, Wolanskyj AP, Thomé SD, Hook CC; Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy Disease-Oriented Group. (2016) Thrombotic Microangiopathy Care Pathway: A Consensus Statement for the Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy (CAP-TMA) Disease-Oriented Group. *Mayo Clin Proc.* Sep;91(9):1189-211. doi: 10.1016/j.mayocp.2016.05.015.

133. Scott EA, Puca KE, Pietz BC, Duchateau BK, Friedman KD. (2007) Comparison and stability of ADAMTS13 activity in therapeutic plasma products. *Transfusion*. Jan;47(1):120-5. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01074.x.
134. Moatti-Cohen M, Garrec C, Wolf M, Boisseau P, Galicier L, Azoulay E, Stepanian A, Delmas Y, Rondeau E, Bezieau S, Coppo P, Veyradier A; French Reference Center for Thrombotic Microangiopathies. (2012) Unexpected frequency of Upshaw-Schulman syndrome in pregnancy-onset thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Jun 14;119(24):5888-97. doi: 10.1182/blood-2012-02-408914.
135. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. (2020) ISTH guidelines for treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Oct;18(10):2496-2502. doi: 10.1111/jth.15010.
136. Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS. (1991) Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med*. Aug 8;325(6):398-403. doi: 10.1056/NEJM199108083250605.
137. Balduini CL, Gugliotta L, Luppi M, Laurenti L, Klersy C, Pieresca C, Quintini G, Iuliano F, Re R, Spedini P, Vianelli N, Zaccaria A, Pogliani EM, Musso R, Bobbio Pallavicini E, Quarta G, Galieni P, Fragasso A, Casella G, Noris P, Ascari E; Italian TTP Study Group. (2010) High versus standard dose methylprednisolone in the acute phase of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a randomized study. *Ann Hematol*. Jun;89(6):591-6. doi: 10.1007/s00277-009-0877-5.
138. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. (2017) Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. May 25;129(21):2836-2846. doi: 10.1182/blood-2016-10-709857.
139. Matsumoto M, Fujimura Y, Wada H, Kokame K, Miyakawa Y, Ueda Y, Higasa S, Moriki T, Yagi H, Miyata T, Murata M; For TTP group of Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour, and Welfare Sciences Research Grants. (2017) Diagnostic and treatment guidelines for thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) 2017 in Japan. *Int J Hematol*. Jul;106(1):3-15. doi: 10.1007/s12185-017-2264-7.

140. Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. (2011) A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Aug 18;118(7):1746-53. doi: 10.1182/blood-2011-03-341131.
141. Froissart A, Buffet M, Veyradier A, Poullin P, Provôt F, Malot S, Schwarzingler M, Galicier L, Vanhille P, Vernant JP, Bordessoule D, Guidet B, Azoulay E, Mariotte E, Rondeau E, Mira JP, Wynckel A, Clabault K, Choukroun G, Presne C, Pourrat J, Hamidou M, Coppo P; French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. (2012) Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med*. Jan;40(1):104-11. doi: 10.1097/CCM.0b013e31822e9d66.
142. Coppo P, Bubenheim M, Azoulay E, Galicier L, Malot S, Bigé N, Poullin P, Provôt F, Martis N, Presne C, Moranne O, Benainous R, Dossier A, Seguin A, Hié M, Wynckel A, Delmas Y, Augusto JF, Perez P, Rieu V, Barbet C, Lhote F, Ulrich M, Rumppler AC, de Witte S, Krummel T, Veyradier A, Benhamou Y. (2021) A regimen with caplacizumab, immunosuppression, and plasma exchange prevents unfavorable outcomes in immune-mediated TTP. *Blood*. Feb 11;137(6):733-742. doi: 10.1182/blood.2020008021.
143. Zwicker JI, Muia J, Dolatshahi L, Westfield LA, Nieters P, Rodrigues A, Hamdan A, Antun AG, Metjian A, Sadler JE; ART Investigators. (2019) Adjuvant low-dose rituximab and plasma exchange for acquired TTP. *Blood*. Sep 26;134(13):1106-1109. doi: 10.1182/blood.2019000795.
144. Reddy MS, Hofmann S, Shen YM, Nagalla S, Rambally S, Usmani A, Sarode R. (2020) Comparison of low fixed dose versus standard-dose rituximab to treat thrombotic thrombocytopenic purpura in the acute phase and preemptively during remission. *Transfus Apher Sci*. Dec;59(6):102885. doi: 10.1016/j.transci.2020.102885.
145. Westwood JP, Thomas M, Alwan F, McDonald V, Benjamin S, Lester WA, Lowe GC, Dutt T, Hill QA, Scully M. (2017) Rituximab prophylaxis to prevent thrombotic

- thrombocytopenic purpura relapse: outcome and evaluation of dosing regimens. *Blood Adv.* Jun 26;1(15):1159-1166. doi: 10.1182/bloodadvances.2017008268.
146. Tsutsumi Y, Yamamoto Y, Ito S, Ohigashi H, Shiratori S, Naruse H, Teshima T. (2015) Hepatitis B virus reactivation with a rituximab-containing regimen. *World J Hepatol.* Sep 28;7(21):2344-51. doi: 10.4254/wjh.v7.i21.2344.
 147. Yazici O, Sendur MA, Aksoy S. (2014) Hepatitis C virus reactivation in cancer patients in the era of targeted therapies. *World J Gastroenterol.* Jun 14;20(22):6716-24. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6716.
 148. Abou-Ismaïl MY, Arafah Y, Fu P, Cao S, Schmaier AH, Nayak L. (2020) Outcomes of Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (iTTP) With Upfront Cyclophosphamide vs. Rituximab. *Front Med (Lausanne).* Oct 28;7:588526. doi: 10.3389/fmed.2020.588526.
 149. Peyvandi F, Scully M, Kremer Hovinga JA, Cataland S, Knöbl P, Wu H, Artoni A, Westwood JP, Mansouri Taleghani M, Jilma B, Callewaert F, Ulrichs H, Duby C, Tersago D; TITAN Investigators. (2016) Caplacizumab for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med.* Feb 11;374(6):511-22. doi: 10.1056/NEJMoa1505533.
 150. Scully M, Cataland SR, Peyvandi F, Coppo P, Knöbl P, Kremer Hovinga JA, Metjian A, de la Rubia J, Pavenski K, Callewaert F, Biswas D, De Winter H, Zeldin RK; HERCULES Investigators. (2019) Caplacizumab Treatment for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med.* Jan 24;380(4):335-346. doi: 10.1056/NEJMoa1806311.
 151. Peyvandi F, Cataland S, Scully M, Coppo P, Knoebl P, Kremer Hovinga JA, Metjian A, de la Rubia J, Pavenski K, Minkue Mi Edou J, De Winter H, Callewaert F. (2021) Caplacizumab prevents refractoriness and mortality in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: integrated analysis. *Blood Adv.* Apr 27;5(8):2137-2141. doi: 10.1182/bloodadvances.2020001834.
 152. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. (2020) ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J*

Thromb Haemost. Oct;18(10):2486-2495. doi: 10.1111/jth.15006. Epub 2020 Sep 11. Erratum in: J Thromb Haemost. 2021 May;19(5):1381.

153. Völker LA, Kaufeld J, Miesbach W, Brähler S, Reinhardt M, Kühne L, Mühlfeld A, Schreiber A, Gaedeke J, Tölle M, Jabs WJ, Özcan F, Markau S, Girndt M, Bauer F, Westhoff TH, Felten H, Hausberg M, Brand M, Gerth J, Bieringer M, Bommer M, Zschiedrich S, Schneider J, Elitok S, Gawlik A, Gäckler A, Kribben A, Schwenger V, Schoenermarck U, Roeder M, Radermacher J, Bramstedt J, Morgner A, Herbst R, Harth A, Potthoff SA, von Auer C, Wendt R, Christ H, Brinkkoetter PT, Menne J. (2020) ADAMTS13 and VWF activities guide individualized caplacizumab treatment in patients with aTTP. *Blood Adv.* Jul 14;4(13):3093-3101. doi: 10.1182/bloodadvances.2020001987.
154. Völker LA, Kaufeld J, Miesbach W, Brähler S, Reinhardt M, Kühne L, Mühlfeld A, Schreiber A, Gaedeke J, Tölle M, Jabs WJ, Özcan F, Markau S, Girndt M, Bauer F, Westhoff TH, Felten H, Hausberg M, Brand M, Gerth J, Bieringer M, Bommer M, Zschiedrich S, Schneider J, Elitok S, Gawlik A, Gäckler A, Kribben A, Schwenger V, Schoenermarck U, Roeder M, Radermacher J, Bramstedt J, Morgner A, Herbst R, Harth A, Potthoff SA, von Auer C, Wendt R, Christ H, Brinkkoetter PT, Menne J. (2020) Real-world data confirm the effectiveness of caplacizumab in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv.* Jul 14;4(13):3085-3092. doi: 10.1182/bloodadvances.2020001973. Erratum in: *Blood Adv.* 2022 Apr 12;6(7):2434.
155. Bobbio-Pallavicini E, Gugliotta L, Centurioni R, Porta C, Vianelli N, Billio A, Tacconi F, Ascari E. (1997) Antiplatelet agents in thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Results of a randomized multicenter trial by the Italian Cooperative Group for TTP. *Haematologica.* Jul-Aug;82(4):429-35.
156. Jacob S, Dunn BL, Qureshi ZP, Bandarenko N, Kwaan HC, Pandey DK, McKoy JM, Barnato SE, Winters JL, Cursio JF, Weiss I, Raife TJ, Carey PM, Sarode R, Kiss JE, Danielson C, Ortel TL, Clark WF, Rock G, Matsumoto M, Fujimura Y, Zheng XL, Chen H, Chen F, Armstrong JM, Raisch DW, Bennett CL. (2012) Ticlopidine-, clopidogrel-, and prasugrel-associated thrombotic thrombocytopenic purpura: a 20-year review from the Southern Network on Adverse Reactions

- (SONAR). *Semin Thromb Hemost.* Nov;38(8):845-53. doi: 10.1055/s-0032-1328894.
157. Lombardi AM, Pasquale ID, Businaro MA, Cortella I, Ferrari S, Fabris F, Vianello F. (2019) Relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura with low ADAMTS13 antigen levels: An indication for splenectomy? *Hematol Rep.* Mar 19;11(1):7904. doi: 10.4081/hr.2019.7904.
 158. Upreti H, Kasmani J, Dane K, Braunstein EM, Streiff MB, Shanbhag S, Moliterno AR, Sperati CJ, Gottesman RF, Brodsky RA, Kickler TS, Chaturvedi S. (2019) Reduced ADAMTS13 activity during TTP remission is associated with stroke in TTP survivors. *Blood.*; 134: 1037-45. 10.1182/blood.2019001056.
 159. Willis MS, Bandarenko N. (2005) Relapse of thrombotic thrombocytopenic purpura: is it a continuum of disease? *Semin Thromb Hemost.* Dec;31(6):700-8. doi: 10.1055/s-2005-925476.
 160. Shumak KH, Rock GA, Nair RC. (1995) Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Group. *Ann Intern Med.* Apr 15;122(8):569-72. doi: 10.7326/0003-4819-122-8-199504150-00002.
 161. Bandarenko N, Brecher ME. (1998) United States Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Apheresis Study Group (US TTP ASG): multicenter survey and retrospective analysis of current efficacy of therapeutic plasma exchange. *J Clin Apher.* 13(3):133-41. doi: 10.1002/(sici)1098-1101(1998)13:3<133::aid-jca7>3.0.co;2-z.
 162. George JN. (2000) How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Blood.* Aug 15;96(4):1223-9.
 163. Vesely SK, George JN, Lämmle B, Studt JD, Alberio L, El-Harake MA, Raskob GE. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood.* 2003 Jul 1;102(1):60-8. doi: 10.1182/blood-2003-01-0193.

164. Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. (2004) Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*:407-23. doi: 10.1182/asheducation-2004.1.407.
165. Kremer Hovinga JA, Studt JD, Alberio L, Lämmle B. von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) activity determination in the diagnosis of thrombotic microangiopathies: the Swiss experience. *Semin Hematol.* 2004 Jan;41(1):75-82. doi: 10.1053/j.seminhematol.2003.10.008.
166. Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, Rieger M, Scheifflinger F, Poullin P, Deroure B, Delarue R, Lesavre P, Vanhille P, Hermine O, Remuzzi G, Grünfeld JP. (2005) Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood.* Sep 15;106(6):1932-7. doi: 10.1182/blood-2005-03-0848.
167. Pogliani E, Perseghin P, Scalzulli PR, Paolini R, Marcenò R, Remuzzi G, Galbusera M. (2009) Rituximab as preemptive treatment in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura and evidence of anti-ADAMTS13 autoantibodies. *Thromb Haemost.* Feb;101(2):233-8.
168. Hie M, Gay J, Galicier L, Provôt F, Presne C, Poullin P, Bonmarchand G, Wynckel A, Benhamou Y, Vanhille P, Servais A, Bordessoule D, Coindre JP, Hamidou M, Vernant JP, Veyradier A, Coppo P; French Thrombotic Microangiopathies Reference Centre. (2014) Preemptive rituximab infusions after remission efficiently prevent relapses in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Jul 10;124(2):204-10. doi: 10.1182/blood-2014-01-550244.
169. Cuker A, Cataland SR, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, Knoebl PN, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Peyvandi F, Sakai K, Sarode R, Thomas MR, Tomiyama Y, Veyradier A, Westwood JP, Scully M. (2021) Redefining outcomes in immune TTP: an international working group consensus report. *Blood.* Apr 8;137(14):1855-1861. doi: 10.1182/blood.2020009150.
170. Desch K, Motto D. Is there a shared pathophysiology for thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic-uremic syndrome? *J Am Soc Nephrol.* 2007 Sep;18(9):2457-60. doi: 10.1681/ASN.2007010062.

171. Ruggenenti P, Remuzzi G. Thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1990 Feb;4(1):219-41.
172. Wright JF, Wang H, Hornstein A, Hogarth M, Mody M, Garvey MB, Blanchette V, Rock G, Freedman J. Characterization of platelet glycoproteins and platelet/endothelial cell antibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 1999 Dec;107(3):546-55. doi: 10.1046/j.1365-2141.1999.01751.x.
173. Ruiz-Torres MP, Casiraghi F, Galbusera M, Macconi D, Gastoldi S, Todeschini M, Porrati F, Belotti D, Pogliani EM, Noris M, Remuzzi G. (2005) Complement activation: the missing link between ADAMTS-13 deficiency and microvascular thrombosis of thrombotic microangiopathies. *Thromb Haemost.* Mar;93(3):443-52. doi: 10.1160/TH04-07-0450.
174. Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE. (2004) Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Jun 1;103(11):4043-9. doi: 10.1182/blood-2003-11-4035.
175. Cat R, Rosario NA, de Messias IT, Resener TD, Kirschfink M. (1993) Evaluation of complement activation in premature newborn infants with hyaline membrane disease. *Eur J Pediatr.* Mar;152(3):205-8. doi: 10.1007/BF01956145.
176. Csuka D, Füst G, Farkas H, Varga L. (2011) Parameters of the classical complement pathway predict disease severity in hereditary angioedema. *Clin Immunol.* Apr;139(1):85-93. doi: 10.1016/j.clim.2011.01.003.
177. Gombos T, Makó V, Cervenak L, Papassotiriou J, Kunde J, Hársfalvi J, Föhréc Z, Pozsonyi Z, Borgulya G, Jánoskúti L, Prohászka Z. (2009) Levels of von Willebrand factor antigen and von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity predict clinical events in chronic heart failure. *Thromb Haemost.* Sep;102(3):573-80. doi: 10.1160/TH09-01-0036.
178. Gerritsen HE, Turecek PL, Schwarz HP, Lämmle B, Furlan M. (1999) Assay of von Willebrand factor (vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding

- affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Thromb Haemost.* Nov;82(5):1386-9.
179. Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. (2001) Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. *Blood.* Nov 1;98(9):2730-5. doi: 10.1182/blood.v98.9.2730.
180. Feys HB, Liu F, Dong N, Pareyn I, Vauterin S, Vandeputte N, Noppe W, Ruan C, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. (2006) ADAMTS-13 plasma level determination uncovers antigen absence in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura and ethnic differences. *J Thromb Haemost.* May;4(5):955-62. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01833.x.
181. De Cristofaro R, Peyvandi F, Palla R, Lavoretano S, Lombardi R, Merati G, Romitelli F, Di Stasio E, Mannucci PM. (2005) Role of chloride ions in modulation of the interaction between von Willebrand factor and ADAMTS-13. *J Biol Chem.* Jun 17;280(24):23295-302. doi: 10.1074/jbc.M501143200.
182. Shelat SG, Smith P, Ai J, Zheng XL. (2006) Inhibitory autoantibodies against ADAMTS-13 in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura bind ADAMTS-13 protease and may accelerate its clearance in vivo. *J Thromb Haemost.* Aug;4(8):1707-17. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02025.x.
183. Monsinjon T, Gasque P, Chan P, Ischenko A, Brady JJ, Fontaine MC. (2003) Regulation by complement C3a and C5a anaphylatoxins of cytokine production in human umbilical vein endothelial cells. *FASEB J.* Jun;17(9):1003-14. doi: 10.1096/fj.02-0737com.
184. Tedesco F, Pausa M, Nardon E, Introna M, Mantovani A, Dobrina A. (1997) The cytolytically inactive terminal complement complex activates endothelial cells to express adhesion molecules and tissue factor procoagulant activity. *J Exp Med.* May 5;185(9):1619-27. doi: 10.1084/jem.185.9.1619.
185. Camous L, Roumenina L, Bigot S, Brachemi S, Frémeaux-Bacchi V, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. (2011) Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. *Blood.* 2011 Jan 27;117(4):1340-9. doi: 10.1182/blood-2010-05-283564.

186. Castellheim A, Pharo A, Fung M, Saugstad OD, Mollnes TE. (2005) Complement C5a is a key mediator of meconium-induced neutrophil activation. *Pediatr Res.* Feb;57(2):242-7. doi: 10.1203/01.PDR.0000150725.78971.30.
187. Sims PJ, Wiedmer T. (1991) The response of human platelets to activated components of the complement system. *Immunol Today.* Sep;12(9):338-42. doi: 10.1016/0167-5699(91)90012-I.
188. Wiedmer T, Ando B, Sims PJ. (1987) Complement C5b-9-stimulated platelet secretion is associated with a Ca²⁺-initiated activation of cellular protein kinases. *J Biol Chem.* Oct 5;262(28):13674-81.
189. Burns ER, Zucker-Franklin D. (1982) Pathologic effects of plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura on platelets and cultured vascular endothelial cells. *Blood.* Oct;60(4):1030-7.
190. Wu XW, Li QZ, Lian EC. (1999) Plasma from a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura induces endothelial cell apoptosis and platelet aggregation. *Thromb Res.* Jan 15;93(2):79-87. doi: 10.1016/s0049-3848(98)00151-0.
191. Dang CT, Magid MS, Weksler B, Chadburn A, Laurence J. (1999) Enhanced endothelial cell apoptosis in splenic tissues of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Feb 15;93(4):1264-70.
192. Mitra D, Jaffe EA, Weksler B, Hajjar KA, Soderland C, Laurence J. (1997) Thrombotic thrombocytopenic purpura and sporadic hemolytic-uremic syndrome plasmas induce apoptosis in restricted lineages of human microvascular endothelial cells. *Blood.* Feb 15;89(4):1224-34.
193. Alvarez-Larrán A, Petriz J, Martínez A, Sanz C, Pereira A. (2003) Plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura induces activation of human monocytes and polymorphonuclear neutrophils. *Br J Haematol.* Jan;120(1):129-34. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04030.x.
194. Valant PA, Jy W, Horstman LL, Mao WW, Ahn YS. (1998) Thrombotic thrombocytopenic purpura plasma enhances platelet-leucocyte interaction in vitro. *Br J Haematol.* Jan;100(1):24-32. doi: 10.1046/j.1365-2141.1998.00526.x.

195. Zwart B, Ciurana C, Rensink I, Manoe R, Hack CE, Aarden LA. (2004) Complement activation by apoptotic cells occurs predominantly via IgM and is limited to late apoptotic (secondary necrotic) cells. *Autoimmunity*. Mar;37(2):95-102. doi: 10.1080/0891693042000196183.
196. Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR, Tijtsma O, Nieuwland R, Schwaeble WJ, Gingras AR, Mantovani A, Hack EC, Roos A. (2002) Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol*. Jun;32(6):1726-36. doi: 10.1002/1521-4141(200206)32:6<1726::AID-IMMU1726>3.0.CO;2-R.
197. Lucisano Valim YM, Lachmann PJ. (1991) The effect of antibody isotype and antigenic epitope density on the complement-fixing activity of immune complexes: a systematic study using chimaeric anti-NIP antibodies with human Fc regions. *Clin Exp Immunol*. Apr;84(1):1-8. doi: 10.1111/j.1365-2249.1991.tb08115.x.
198. Ferrari S, Knöbl P, Kolovratova V, Plaimauer B, Turecek PL, Varadi K, Rottensteiner H, Scheiflinger F. (2012) Inverse correlation of free and immune complex-sequestered anti-ADAMTS13 antibodies in a patient with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Jan;10(1):156-8. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04548.x.
199. Tati R, Kristoffersson AC, Ståhl AL, Rebetz J, Wang L, Licht C, Motto D, Karpman D. (2013) Complement activation associated with ADAMTS13 deficiency in human and murine thrombotic microangiopathy. *J Immunol*. Sep 1;191(5):2184-93. doi: 10.4049/jimmunol.1301221. Epub 2013 Jul 22. Erratum in: *J Immunol*. 2014 Feb 15;192(4):1990.
200. Wu TC, Yang S, Haven S, Holers VM, Lundberg AS, Wu H, Cataland SR. (2013) Complement activation and mortality during an acute episode of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. Oct;11(10):1925-7. doi: 10.1111/jth.12369.
201. Renner B, Klawitter J, Goldberg R, McCullough JW, Ferreira VP, Cooper JE, Christians U, Thurman JM. (2013) Cyclosporine induces endothelial cell release of complement-activating microparticles. *J Am Soc Nephrol*. Nov;24(11):1849-62. doi: 10.1681/ASN.2012111064.

202. Wu H, Jay L, Lin S, Han C, Yang S, Cataland SR, Masias C. (2020) Interrelationship between ADAMTS13 activity, von Willebrand factor, and complement activation in remission from immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* Apr;189(1):e18-e20. doi: 10.1111/bjh.16415.
203. Westwood JP, Langley K, Heelas E, Machin SJ, Scully M. (2014) Complement and cytokine response in acute Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Br J Haematol.* Mar;164(6):858-66. doi: 10.1111/bjh.12707.
204. Turner NA, Moake J. (2013) Assembly and activation of alternative complement components on endothelial cell-anchored ultra-large von Willebrand factor links complement and hemostasis-thrombosis. *PLoS One.* 8(3):e59372. doi: 10.1371/journal.pone.0059372.
205. Mikes B, Sinkovits G, Farkas P, Csuka D, Schlammadinger A, Rázsó K, Demeter J, Domján G, Réti M, Prohászka Z. (2014) Elevated plasma neutrophil elastase concentration is associated with disease activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res.* Apr;133(4):616-21. doi: 10.1016/j.thromres.2014.01.034.
206. Mikes B, Sinkovits G, Farkas P, Csuka D, Schlammadinger Á, Rázsó K, Demeter J, Domján G, Réti M, Prohászka Z. (2016) Corrigendum to "Elevated plasma neutrophil elastase concentration is associated with disease activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura" [*Thromb. Res.* 133 (2014) 616-621]. *Thromb Res.* May;141:145. doi: 10.1016/j.thromres.2016.03.023.
207. Noone DG, Riedl M, Pluthero FG, Bowman ML, Liszewski MK, Lu L, Quan Y, Balgobin S, Schneppenheim R, Schneppenheim S, Budde U, James P, Atkinson JP, Palaniyar N, Kahr WH, Licht C. (2016) Von Willebrand factor regulates complement on endothelial cells. *Kidney Int.* Jul;90(1):123-34. doi: 10.1016/j.kint.2016.03.023.
208. Bettoni S, Galbusera M, Gastoldi S, Donadelli R, Tentori C, Spartà G, Bresin E, Mele C, Alberti M, Tortajada A, Yebenes H, Remuzzi G, Noris M. (2017) Interaction between Multimeric von Willebrand Factor and Complement: A Fresh Look to the Pathophysiology of Microvascular Thrombosis. *J Immunol.* Aug 1;199(3):1021-1040. doi: 10.4049/jimmunol.1601121.

209. Zheng L, Zhang D, Cao W, Song WC, Zheng XL. (2019) Synergistic effects of ADAMTS13 deficiency and complement activation in pathogenesis of thrombotic microangiopathy. *Blood*. Sep 26;134(13):1095-1105. doi: 10.1182/blood.2019001040.
210. Pecoraro C, Ferretti AV, Rurali E, Galbusera M, Noris M, Remuzzi G. (2015) Treatment of Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura With Eculizumab. *Am J Kidney Dis*. Dec;66(6):1067-70. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.06.032.
211. Chapin J, Weksler B, Magro C, Laurence J. (2012) Eculizumab in the treatment of refractory idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. Jun;157(6):772-4. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09084.x.
212. Tsai E, Chapin J, Laurence JC, Tsai HM. (2013) Use of eculizumab in the treatment of a case of refractory, ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: additional data and clinical follow-up. *Br J Haematol*. Aug;162(4):558-9. doi: 10.1111/bjh.12387.
213. Atrash S, Sasapu A, Pandey S, Cottler-Fox M, Motwani P. (2017) Complement Regulatory Genetic Mutations in the Setting of Autoimmune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Case Series. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes*. Dec 20;2(1):69-73. doi: 10.1016/j.mayocpiqo.2017.11.004.
214. Sasapu A, Cottler-Fox M, Motwani P. (2017) Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical hemolytic uremic syndrome successfully treated with eculizumab. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. Apr;30(2):182-183. doi: 10.1080/08998280.2017.11929576.
215. Vigna E, Petrungaro A, Perri A, Terzi D, Recchia AG, Mendicino F, La Russa A, Bossio S, De Stefano L, Zinno F, Bonofiglio R, Morabito F, Gentile M. Efficacy of eculizumab in severe ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) refractory to standard therapies. *Transfus Apher Sci*. 2018 Apr;57(2):247-249. doi: 10.1016/j.transci.2018.03.005.
216. Bitzan M, Hammad RM, Bonnefoy A, Al Dhaheri WS, Vézina C, Rivard GÉ. Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with isolated CFHR3/1 deletion-rapid remission following complement blockade. *Pediatr Nephrol*. 2018 Aug;33(8):1437-1442. doi: 10.1007/s00467-018-3957-8.

217. Feng S, Eyster SJ, Zhang Y, Maga T, Nester CM, Kroll MH, Smith RJ, Afshar-Kharghan V. (2013) Partial ADAMTS13 deficiency in atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. Aug 22;122(8):1487-93. doi: 10.1182/blood-2013-03-492421.
218. Oh J, Oh D, Lee SJ, Kim JO, Kim NK, Chong SY, Huh JY, Baker RI; (2019) Korean TTP Registry Investigators. Prognostic utility of ADAMTS13 activity for the atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and comparison of complement serology between aHUS and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Res*. Sep;54(3):218-228. doi: 10.5045/br.2019.54.3.218.
219. Elhadad S, Chapin J, Copertino D, Van Besien K, Ahamed J, Laurence J. (2021) MASP2 levels are elevated in thrombotic microangiopathies: association with microvascular endothelial cell injury and suppression by anti-MASP2 antibody narsoplimab. *Clin Exp Immunol*. Jan;203(1):96-104. doi: 10.1111/cei.13497.
220. Lim W, Vesely SK, George JN. (2015) The role of rituximab in the management of patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Mar 5;125(10):1526-31. doi: 10.1182/blood-2014-10-559211. Epub 2015 Jan 8. PMID: 25573992; PMCID: PMC4351502.
221. Page EE, Kremer Hovinga JA, Terrell DR, Vesely SK, George JN. (2016) Clinical importance of ADAMTS13 activity during remission in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Oct 27;128(17):2175-2178. doi: 10.1182/blood-2016-06-724161.
222. Johnson KK, Terrell DR, Lammle B, Kremer Hovinga JA, George JN, Vesely SK. (2006) Predicting risk for relapse in patients who have recovered from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 108:31a. Abstract 91
223. Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. (2008) Relationship between ADAMTS13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br J Haematol*. May;141(5):651-8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07107.x.
224. Kremer Hovinga JA, Vesely SK, Terrell DR, Lammle B, George JN. (2010) Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. Feb 25;115(8):1500-11; quiz 1662. doi: 10.1182/blood-2009-09-243790.

225. Sui J, Cao W, Halkidis K, Abdelgawwad MS, Kocher NK, Guillory B, Williams LA, Gangaraju R, Marques MB, Zheng XL. (2019) Longitudinal assessments of plasma ADAMTS13 biomarkers predict recurrence of immune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv.* Dec 23;3(24):4177-4186. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000939.
226. Schieppati F, Russo L, Marchetti M, Barcella L, Cefis M, Gomez-Rosas P, Caldara G, Carpenedo M, D'Adda M, Rambaldi A, Savignano C, Billio A, Bruno Franco M, Toschi V, Falanga A. (2020) Low levels of ADAMTS-13 with high anti-ADAMTS-13 antibodies during remission of immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura highly predict for disease relapse: A multi-institutional study. *Am J Hematol.* Aug;95(8):953-959. doi: 10.1002/ajh.25845.

10 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

10.1 Az értekezéshez kapcsolódó közlemények (összesített IF: 9,019)

1. **Réti M**, Farkas P, Csuka D, Rázsó K, Schlammdinger Á, Udvardy ML, Madách K, Domján G, Bereczki C, Reusz GS, Szabó AJ, Prohászka Z. (2012) Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* May;10(5):791-8. *Megosztott első szerzők*: IF:6,081 → **IF:3,041**
2. **Réti M**, Reusz, Gy, Prohászka Z, Valyi-Nagy I, Wittmann I, Nékám K. (2017) Egészségügyi szakmai irányelv – A thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolyticus uraemiás syndroma (HUS) kezeléséről. *Orvosi Hetilap* 2017 May;158(Suppl 2):1-44.
3. Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, Valsecchi C, Canciani MT, Fabris F, Zver S, **Réti M**, Mikovic D, Karimi M, Giuffrida G, Laurenti L, Mannucci PM. (2008) ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica.* 2008 Feb;93(2):232-9. **IF:5,978**

10.2 Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények (összesített IF: 185,454)

1. Uher F, Matula Z, Gönczi M, Gopcsa L, Bekő G, **Réti M**, Szekanecz Z, Ajzner É, Vályi-Nagy I. (2022) A súlyos akut légzőszervi szindrómát okozó koronavírus-2 elleni immunválasz. *Orvosi Hetilap* May 15;163(20):774-787. **IF: 0,707***
2. Henry BM, Sinkovits G, Szergyuk I, de Oliveira MHS, Lippi G, Benoit JL, Favaloro EJ, Pode-Shakked N, Benoit SW, Cooper DS, Müller V, Iványi Z, Gál J, **Réti M**, Gopcsa L, Reményi P, Szathmáry B, Lakatos B, Szlávik J, Bobek I, Prohászka ZZ, Förhécz Z, Csuka D, Hurler L, Kajdácsi E, Cervenak L, Mező B, Kiszél P, Masszi T, Vályi-Nagy I, Prohászka Z. (2022) Complement Levels at Admission Reflecting Progression to Severe Acute Kidney Injury (AKI) in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Multicenter Prospective Cohort Study. *Front Med (Lausanne).* Apr 29;9:796109. **IF: 5,058***
3. Nádasdi Á, Sinkovits G, Bobek I, Lakatos B, Förhécz Z, Prohászka ZZ, **Réti M**, Arató M, Cseh G, Masszi T, Merkely B, Ferdinandy P, Vályi-Nagy I, Prohászka Z,

- Firneisz G. (2022) Decreased circulating dipeptidyl peptidase-4 enzyme activity is prognostic for severe outcomes in COVID-19 inpatients. *Biomark Med.* Apr;16(5):317-330. **IF: 2,498***
4. Sinkovits G, **Réti M**, Müller V, Iványi Z, Gál J, Gopcsa L, Reményi P, Szathmáry B, Lakatos B, Szlávik J, Bobek I, Prohászka ZZ, FörhécZ Z, Mező B, Csuka D, Hurler L, Kajdácsi E, Cervenak L, Kiszal P, Masszi T, Vályi-Nagy I, Prohászka Z. (2022) Associations between the von Willebrand Factor-ADAMTS13 Axis, Complement Activation, and COVID-19 Severity and Mortality. *Thromb Haemost.* Feb;122(2):240-256. **IF: 6,681***
 5. Gopcsa L, Bobek I, Bekő G, Lakatos B, Molnár E, **Réti M**, Reményi P, Sinkó J, Szlávik J, Tatai G, Vályi-Nagy I. (2021) Common points of therapeutic intervention in COVID-19, and in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation associated severe cytokine release syndrome. *Acta Microbiol Immunol Hung.* Nov 19. **IF: 2,298**
 6. Vályi-Nagy I, Matula Z, Gönczi M, Tasnády S, Bekő G, **Réti M**, Ajzner É, Uher F. (2021) Comparison of antibody and T cell responses elicited by BBIBP-CorV (Sinopharm) and BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) vaccines against SARS-CoV-2 in healthy adult humans. *Geroscience.* Oct;43(5):2321-2331. **IF: 7,581**
 7. Kangro K, Roose E, Joly BS, Sinkovits G, Falter T, von Auer C, Rossmann H, **Reti M**, Voorberg J, Prohászka Z, Lämmle B, Coppo P, Veyradier A, De Meyer SF, Männik A, Vanhoorelbeke K. (2021) Anti-ADAMTS13 autoantibody profiling in patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv.* Sep 14;5(17):3427-3435. **IF: 7,637**
 8. Sinkovits G, Mező B, **Réti M**, Müller V, Iványi Z, Gál J, Gopcsa L, Reményi P, Szathmáry B, Lakatos B, Szlávik J, Bobek I, Prohászka ZZ, FörhécZ Z, Csuka D, Hurler L, Kajdácsi E, Cervenak L, Kiszal P, Masszi T, Vályi-Nagy I, Prohászka Z. (2021) Complement Overactivation and Consumption Predicts In-Hospital Mortality in SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* Mar 25;12:663187. **IF: 8,786**
 9. Velásquez Pereira LC, Roose E, Graça NAG, Sinkovits G, Kangro K, Joly BS, Tellier E, Kaplanski G, Falter T, Von Auer C, Rossmann H, Feys HB, **Reti M**, Prohászka Z, Lämmle B, Voorberg J, Coppo P, Veyradier A, De Meyer SF, Männik

- A, Vanhoorelbeke K. (2021) Immunogenic hotspots in the spacer domain of ADAMTS13 in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* Feb;19(2):478-488. **IF: 16,036**
10. Roose E, Schelpe AS, Tellier E, Sinkovits G, Joly BS, Dekimpe C, Kaplanski G, Le Besnerais M, Mancini I, Falter T, Von Auer C, Feys HB, **Réti M**, Rossmann H, Vandenbulcke A, Pareyn I, Voorberg J, Greinacher A, Benhamou Y, Deckmyn H, Fijnheer R, Prohászka Z, Peyvandi F, Lämmle B, Coppo P, De Meyer SF, Veyradier A, Vanhoorelbeke K. (2020) Open ADAMTS13, induced by antibodies, is a biomarker for subclinical immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* Jul 16;136(3):353-361. **IF: 23,629**
 11. Bobek I, Gopcsa L, **Réti M**, Bekő G, Hancz L, Lakatos B, Molnár E, Nagy S, Reményi P, Sebestyén G, Sinkó J, Szlávik J, Szolnoky M, Vályi-Nagy I. (2020) [Successful administration of convalescent plasma in critically ill COVID-19 patients in Hungary: the first two cases]. *Orv Hetil.* Jul;161(27):1111-1121. **IF: 0,540**
 12. Rendeiro AF, Krausgruber T, Fortelny N, Zhao F, Penz T, Farlik M, Schuster LC, Neme A, Tasnády S, **Réti M**, Mátrai Z, Alpár D, Bödör C, Schmidl C, Bock C. (2020) Chromatin mapping and single-cell immune profiling define the temporal dynamics of ibrutinib response in CLL. *Nat Commun.* Jan 29;11(1):577. **IF: 14,919**
 13. Tasnády S, Karászi É, Szederjesi A, Bihari G, Juhász Z, Hardi A, Kriván G, Kállay K, Reményi P, Sinkó J, Mikala G, **Réti M**, Masszi T. (2020) Identification of the best-suited donor for generating virus-specific T cells. *Vox Sang.* Jan;115(1):18-26. **IF: 2,144**
 14. Gángó A, Alpár D, Galik B, Marosvári D, Kiss R, Fésüs V, Aczél D, Eyüpoglu E, Nagy N, Nagy Á, Krizsán S, Reiniger L, Farkas P, Kozma A, Ádám E, Tasnády S, **Réti M**, Matolcsy A, Gyenesei A, Mátrai Z, Bödör C. (2020) Dissection of subclonal evolution by temporal mutation profiling in chronic lymphocytic leukemia patients treated with ibrutinib. *Int J Cancer.* Jan 1;146(1):85-93. **IF: 7,396**
 15. Szabó BG, Bobek I, **Réti M**, Gopcsa L, Mathiász D, Lakatos B, Bekő G, Pető M, Sinkó J, Mikala G, Kis Z, Szlávik J, Reményi P & Vályi-Nagy I. (2020). Az új típusú koronavírus okozta megbetegedés (COVID–19): összefoglaló hematológusoknak

- II. – a diagnosztika, terápia és prevenció lehetőségei, Hematológia–Transzfuziológia, 53(2), 81-95
16. Szabó B G., Bobek I, **Réti M**, Gopcsa L, Mathiász D, Lakatos B, Bekő G, Pető M, Sinkó J, Mikala G, Kis Z, Szlávik J, Reményi P & Vályi-Nagy I. (2020). Az új típusú koronavírus okozta megbetegedés (COVID–19): összefoglaló hematológusoknak I. – virológia, molekuláris patogenezis és klinikum, Hematológia–Transzfuziológia, 53(2), 68-80.
 17. Trojnar E, Józsi M, Szabó Z, **Réti M**, Farkas P, Kelen K, Reusz GS, Szabó AJ, Garam N, Mikes B, Sinkovits G, Mező B, Csuka D, Prohászka Z. (2019) Elevated Systemic Pentraxin-3 Is Associated With Complement Consumption in the Acute Phase of Thrombotic Microangiopathies. Front Immunol. Feb 25;10:240. **IF: 5,085**
 18. Sinkovits G, Szilágyi Á, Farkas P, Inotai D, Szilvási A, Tordai A, Rázsó K, **Réti M**, Prohászka Z. (2018) Concentration and Subclass Distribution of Anti-ADAMTS13 IgG Autoantibodies in Different Stages of Acquired Idiopathic Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Front Immunol. Jul 16;9:1646. **IF: 4,716**
 19. Kállay K, Kassa C, **Réti M**, Karászi É, Sinkó J, Goda V, Stréhn A, Csordás K, Horváth O, Szederjesi A, Tasnády S, Hardi A, Kriván G. (2018) Early Experience With CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) System in Selection of Virus-specific T Cells From Third-party Donors for Pediatric Patients With Severe Viral Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. J Immunother. Apr;41(3):158-163. **IF: 3,455**
 20. Kállay K, Csomor J, Ádám E, Bödör C, Kassa C, Simon R, Kovács G, Péter G, Ottóffy G, Bartyik K, Kiss C, Masát P, Réti M, Tóth B, Kriván G. (2018) Korszakváltás a gyermekkori szerzett csontvelő-elégtelenséggel járó kórképek kezelésében Magyarországon [Change in paradigm in the treatment of pediatric acquired bone marrow failure syndromes in Hungary]. Orv Hetil. Oct;159(42):1710-1719. **IF: 0,564**
 21. Bátaí Á, Reményi P, **Réti M**, Barta A, Gopcsa L, Lengyel L, Torbágyi É, Csukly Z, Karászi É, Tordai A, Andrikovics H, Balassa K, Tasnády S, Masszi T. (2017) [Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Hungary]. Orv Hetil. Feb;158(8):291-297. **IF: 0,322**

22. Sinkovits G, Szilágyi Á, Farkas P, Inotai D, Szilvási A, Tordai A, Rázsó K, **Réti M**, Prohászka Z. (2017) The role of human leukocyte antigen DRB1-DQB1 haplotypes in the susceptibility to acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hum Immunol.* Feb;78(2):80-87. **IF: 1,994**
23. Farkas P, Csuka D, Mikes B, Sinkovits G, **Réti M**, Németh E, Rácz K, Madách K, Gergely M, Demeter J, Prohászka Z. (2017) Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies. *Immunobiology.* Feb;222(2):119-127. **IF: 2,873**
24. Leffler J, Prohászka Z, Mikes B, Sinkovits G, Ciacma K, Farkas P, **Réti M**, Kelen K, Reusz GS, Szabó AJ, Martin M, Blom AM. (2017) Decreased Neutrophil Extracellular Trap Degradation in Shiga Toxin-Associated Haemolytic Uraemic Syndrome. *J Innate Immun.*;9(1):12-21. **IF: 3,837**
25. Mikes B, Sinkovits G, Farkas P, Csuka D, Rázsó K, **Réti M**, Radványi G, Demeter J, Prohászka Z. (2016) Carboxiterminal pro-endothelin-1 as an endothelial cell biomarker in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost.* May 2;115(5):1034-43. **IF: 5,627**
26. Szarvas N, Szilágyi Á, Csuka D, Takács B, Rusai K, Müller T, Arbeiter K, **Réti M**, Haris Á, Wagner L, Török S, Kelen K, Szabó AJ, Reusz GS, Morgan BP, Prohászka Z. (2016) Genetic analysis and functional characterization of novel mutations in a series of patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol.* Mar;71:10-22. **IF: 3,236**
27. Remenyi P, Varga G, Mikala G, **Reti M**, Gopcsa L, Batai A, Csukly Z, Lengyel L, Torbagyi E, Barta A, Fabian J, Levai D, Szombath G, Andrikovics H, Masszi T. (2016) Early Versus Delayed Autologous Stem Cell Transplantation and Interferon Maintenance in Multiple Myeloma: Single-Center Experience of 18 Years. *Transplant Proc.* Jan-Feb;48(1):177-84. **IF: 0,908**
28. Balassa K, Andrikovics H, Remenyi P, Batai A, Bors A, Kiss KP, Szilvasi A, Rajczy K, Inotai D, Gopcsa L, Lengyel L, Barta A, **Reti M**, Tordai A, Masszi T. (2015) The potential role of HLA-DRB1*11 in the development and outcome of haematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplant.* Oct;50(10):1321-5. **IF: 3,636**

29. Reményi P, Gopcsa L, Marton I, **Réti M**, Mikala G, Pető M, Barta A, Bártai A, Farkas Z, Borbényi Z, Csukly Z, Bodó I, Fábíán J, Király A, Lengyel L, Piukovics K, Torbágyi E, Masszi T. (2014) Peripheral blood stem cell mobilization and engraftment after autologous stem cell transplantation with biosimilar rhG-CSF. *Adv Ther. Apr*;31(4):451-60. **IF: 2,272**
30. Mikes B, Sinkovits G, Farkas P, Csuka D, Schlammadinger A, Rázsó K, Demeter J, Domján G, **Réti M**, Prohászka Z. (2014) Elevated plasma neutrophil elastase concentration is associated with disease activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res. Apr*;133(4):616-21. **IF: 2,447**
31. Mikes B, Sinkovits G, Farkas P, Csuka D, Schlammadinger Á, Rázsó K, Demeter J, Domján G, **Réti M**, Prohászka Z. (2016) Corrigendum to "Elevated plasma neutrophil elastase concentration is associated with disease activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura" [*Thromb. Res. 133 (2014) 616-621*]. *Thromb Res. May*;141:145
32. **Réti M**: (2019) Aferezis: donor és terápiás alkalmazás: Vezendy K (szerk): Transzfúzió. Második, átdolgozott kiadás. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 289-313. oldal
33. Csordás K, Kállay K, Kassa Cs, Stréhn A, Kertész G, Goda V, Horváth O, **Réti M**, Kriván G. (2018) Mesenchymalis őssejt terápia – új lehetőség az akut graft versus host betegség kezelésében? *Gyermekgyógyászat* 69:6 pp. 380-385
34. Stréhn A, Kassa Cs, Horváth O, Csordás K, Goda V, Kállay K, Kertész G, **Réti M**, Kriván G. (2018) A legfiatalabb őssejt-transzplantált. *Gyermekgyógyászat* 69:4 pp. 289-292
35. Fülöp V, Simsa P, Padányi Á, Kotlán B, Rajczy K, Gyódi É, **Réti M**, Hoffer I, Demeter J, Petrányi Gy, (2015) Intravénás immunglobulin és partner specifikus trombocita transzfúziós kezelés a habituális vetélések immundiagnosztikailag szelektált eseteiben. *Magyar Nőorvosok Lapja*. 78 : 4 pp. 200-209
36. **Réti M**. (2014) Aferezis, donor és terápiás alkalmazás. Vezendi K (szerk): Transzfúzió, Medicina Könyvkiadó ZRT, Budapest. pp. 273-298
37. **Réti M**. (2012) A thrombotikus thrombocytopeniás purpura és haemolytikus uraemiás szindróma *Focus Medicinae* 14 : 2-3 pp. 38-46

38. Kállay K, Liptai Z, Benyó G, Kassa C, Stréhn A, Goda V, Sinkó J, Rásonyi R, **Réti M**, Kriván G. (2012) A boxbajnok - avagy kihívások egy X-hez kötött adrenoleukodystrophiában szenvedő gyermek transzplantációjakor. Hematológia-Transzfúziológia, 45: 23-26
39. Basak GW, Mikala G, Koristek Z, Jaksic O, Basic-Kinda S, Cegledi A, **Réti M**, Masszi T, Mayer J, Giebel S, Hübel K, Labar B, Wiktor-Jedrzejczak W. (2011) Plerixafor to rescue failing chemotherapy-based stem cell mobilization: it's not too late. Leuk Lymphoma. Sep;52(9):1711-9. **IF: 2,580**
40. Reusz GS, Szabó AJ, Réti M, Györke Z, Szilágyi Á, Farkas P, Prohászka Z. (2011) Diagnosis and classification of hemolytic uremic syndrome: the Hungarian experience. Transplant Proc. May;43(4):1247-9. **IF: 1,005**
41. Prohászka Z, Szilágyi Á, **Réti, M**, Szabó AJ, Reusz, Gy. (2011) A haemolyticus uraemiás szindróma diagnosztikájának és terápiájának aktuális kérdései.: 2. rész: A betegek hosszú távú kezelésének és gondozásának szempontjai. Hypertonia és Nephrológia 15 : 3 pp. 101-109
42. Prohászka Z, Szilágyi Á, Szabó MZ, **Réti M**, Reusz Gy. (2010) A haemolyticus uraemiás szindróma diagnosztikájának és terápiájának aktuális kérdései: 1. rész. Diagnosztika és kezdeti terápia. Hypertonia és Nephrológia 14 : 5 pp. 223-229
43. **Réti M**, Udvardy M. (2011) A thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolyticus uraemiás szindróma (HUS) kezelése In: Lehoczky, Dezső (szerk.) Hematológiai betegségek korszerű kezelése: A Magyar Transzfúziológiai és Hematológiai Szakmai Kollégium és a Tudományos Társaság kezelési irányelvei. Budapest, Magyarország: Zafir Press pp. 335-348
44. Vereckei E, Kriván G, **Réti M**, Szodoray P, Poór G, Kiss E. (2010) Anti-TNF-alpha-induced anti-phospholipid syndrome manifested as necrotizing vasculitis. Scand J Rheumatol. Mar;39(2):175-7. **IF: 2,594**
45. Vértessaljai M, Piróth Zs, Fontos G, Tóth A, Simor T, Andréka P, Lueff S, **Réti M**, Masszi T. (2009) Csontvelői őssejttranszplantáció akut szívizominfarktusbán. Magyar Orvos 17: 3 pp. 39-42
46. Vertessaljai M, Piroth Z, Fontos G, Andreka G, Font G, Szantho G, Lueff S, **Réti M**, Masszi T, Ablonczy L, Juhasz ED, Simor T, Turner MS, Andreka P. (2008) Drugs,

gene transfer, signaling factors: a bench to bedside approach to myocardial stem cell therapy. *Heart Fail Rev.* Jun;13(2):227-44. **IF:4,015**

47. Kotlan B, Padanyi A, Batorfi J, Fulop V, Szigetvari I, Rajczy K, Penzes M, Gyodi E, **Reti M**, Petranyi G. (2006) Alloimmune and autoimmune background in recurrent pregnancy loss - successful immunotherapy by intravenous immunoglobulin. *Am J Reprod Immunol.* May;55(5):331-40. **IF: 1,743**
48. Vertesaljai M, Piroth Z, Fontos G, Toth A, Simor T, Lueff S, Remenyi P, **Reti M**, Masszi T, Andreka P. (2006) Akut szívizom-infarctusban végzett első magyar autolog csontvelői őssejt transzplantációk során szerzett tapasztalataink [Experiences with the first, Hungarian autologous bone marrow cell transplantation in acute myocardial infarction] *Orvosi Hetilap* 147: 1 pp. 3-6
49. Kriván G, Sinkó J, Zsolnai Nagy I, Goda V, Reményi P, Batai A, Lueff S, Kapás B, **Réti M**, Tremmel A, Masszi T. (2006) Successful combined antifungal salvage therapy with liposomal amphotericin B and caspofungin for invasive *Aspergillus flavus* infection in a child following allogeneic bone marrow transplantation. *Acta Biomed.*;77 Suppl 2:17-21.
50. Masszi T, Farkas A, Remenyi P, Lueff S, Batai A, Krivan G, Kemeny L, Dobozy A, **Reti M**. (2006) Ten-year remission of psoriasis after allogeneic but not autologous bone marrow transplantation. *Dermatology.*;212(1):88-9. **IF: 1,854**
51. **Réti M**. (2006) Palliatív és szupportív kezelés: Sejt- és plazmaferézis az onkohematológiában. In: Dank, M; Demeter, J (szerk.) Fókuszban az onkológia és onkohematológia. Budapest, Magyarország: Melinda Kiadó 863 p. pp. 823-830
52. **Réti M**. (2006) Óssejtátültetés: Óssejt-mobilizálás, celluláris immunterápiás lehetőségek In: Dank, M; Demeter, J (szerk.) Fókuszban az onkológia és onkohematológia. Budapest, Magyarország: Melinda Kiadó 863 p. pp. 715-724
53. Vertesaljai M, Piroth Z, Fontos G, Andreka G, Font G, Szantho G, **Reti M**, Masszi T, Andreka P. (2005) Óssejtek alkalmazása a cardiovascularis betegségek kezelésében. *Orvosi Hetilap* 146: 47 pp. 2383-2388
54. Batorfi J, Kotlan B, Padanyi A, Reti M, Gyodi E, Rajczy K, Miklos K, Nemeth J, Melicher F, Valyi Nagy I, Petrányi Gy, Fülöp V. (2005) Az immunpatológiai hátterű habituális vetélés kezelése terhesség alatti intravénás immunglobulinnal

- [Intravenous Immunoglobulin Treatment of Recurrent Spontaneous Abortion With Immunopathological Background] Orvosi Hetilap 146: 45 pp. 2297-2302. (2005)
55. Padányi Á, Kotlán B, Fülöp V, Bátorfi J, **Réti M**, Gyódi É, Rajczy K, Nagymányoki Z, Doszpod J, Petrányi Gy. (2004) Rekurrens spontán vetélők immunterápiájával elért eredményeink. Tranzfúzió 2004: 37 pp. 71-78
 56. **Réti M**, Udvardy M. (2004) A thrombotikus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolytikus uraemiás szindróma (HUS): Lehoczky D (szerk): Transzfúziológiai és Haematológiai Szakmai Kollégium: Hematológiai betegségek kezelésének módszertana. Documed, Budapest
 57. Bátorfi J, Kotlán B, Padányi A, **Réti M**, Gyódi E, Rajczy K, Szigetvári I, Doszpod J, Petrányi G, Fülöp V. (2002) Habitualis vetélők immunológiai kivizsgálása és immunterápiája - kezdeti tapasztalatok. Magyar Nőorvosok Lapja 65 : 2 pp. 93-96.
 58. Kotlán B, Fülöp V, Padányi A, Szigetvári I, **Réti M**, Gyódi E, Fehér E, Petrányi G. (2001) High anti-paternal cytotoxic T-lymphocyte precursor frequencies in women with unexplained recurrent spontaneous abortions. Hum Reprod. Jun;16(6):1278-85. **IF: 2,987**
 59. Barta A, Dénes R, Masszi T, Reményi P, Báta A, Torbágyi E, Sipos A, Lengyel L, Jakab K, Gyódi E, **Réti M**, Földi J, Páldi-Haris P, Avalos M, Pálóczi K, Fekete S, Török J, Hoffer I, Jakab J, Váradi G, Kelemen E, Petrányi G. (2001) Remarkably reduced transplant-related complications by dibromomannitol non-myeloablative conditioning before allogeneic bone marrow transplantation in chronic myeloid leukemia. Acta Haematol.;105(2):64-70. **IF: 0,796**
 60. Kotlán B, Fülöp V, Bátorfi J; Padányi Á, **Réti M**, Doszpod J, Petrányi Gy. (2001) Rekurrens spontán vetélők immunterápiás lehetőségei: transzfúziós előkezelés, intravénás immunglobulin-terápia. Tranzfúzió 34 pp. 147-156
 61. **Réti M**. (2001) A thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolytikus uraemiás szindróma (HUS) In: Lehoczky, Dezső (szerk.) Hematológiai betegségek kezelése: A Transzfúziológiai és Hematológiai Társaság kezelési ajánlásai. Budapest, Magyarország: Melania Kiadó pp. 95-107
 62. **Réti M**, Szabó J E, Hoffer I (2001) A thrombocytá-tztranszfúzió módszertana In: Lehoczky, Dezső (szerk.) Hematológiai betegségek kezelése: A Transzfúziológiai

és Hematológiai Társaság kezelési ajánlásai. Budapest, Magyarország: Melania Kiadó pp. 108-112

63. **Réti M.** (2000) A HUMAN és a BIOTEST-albumin összehasonlító vizsgálata plazmacsere során. Transzfúzió 33:(4.különszám): 79-84
64. Péntes M, Rajczy K, Gyódi E, **Réti M**, Fehér E, Petrányi G. (1999) HLA-G gene polymorphism in the normal population and in recurrent spontaneous abortion in Hungary. Transplant Proc. Jun;31(4):1832-3. **IF: 0,590**
65. **Réti M.** (1999) A thrombocytá készítmények alkalmazása a mindennapi klinikai gyakorlatban. Kórház 7:12 pp. 28-32
66. **Réti M.** (1999) A terápiás apheresis finanszírozása. Kórház 6 pp. 21-26
67. Padányi A, Horuzsko A, Gyódi E, **Réti M**, Pócsik E, Kotlán B, Perner F, Petrányi G. (1998) Humoral and cell-mediated factors involved in the suppressive regulation induced by special blood derivatives and their clinical relevance. Transplant Proc. Dec;30(8):3967-71. **IF: 0,740**
68. Kelemen E, Denes R, Barta A, Masszi T, Remenyi P, Paloczi K, Batai A, Torbagyi E, Sipos A, Lengyel L, Jakab K, Gyódi É, Réti M, Földi J, Páldi-Haris P, Manuel A, Fekete S, Török J, Hoffer I, Jakab J, Váradi G, Petrányi Gy. (1998) Új, sugárzásmentes csontvelő-transzplantációs kondicionáló kezelés dibrommannitollal krónikus myeloid leukaemiában [A new radiation-free conditioning in bone marrow transplantation and dibromo-mannitol therapy in chronic myeloid leukemia]. Orvosi Hetilap 139: 34 pp. 2003-2011.
69. Padányi A, Horuzsko A, Gyódi E, Réti M, Perner F, Petrányi G Gy. (1998) Long-term related kidney graft survival in high-risk patients after monitored donor-specific transfusion protocol. Transplant International 11: Suppl. 1 pp. S110-S114. **IF: 1,870**
70. Petrányi GG, **Réti M**, Harsányi V, Szabó J. (1997) Immunologic consequences of blood transfusion and their clinical manifestations. Int Arch Allergy Immunol. Dec;114(4):303-15. **IF:1,721**
71. Intódy Zs, Hajdu K, **Réti M**, Gombos S, Mészáros J, Vörös Jné, Jakab J, Hoffer I, Doszpod J. (1996) Az Rh-alloimmunizáció intrauterin kezelése. Orvosi Hetilap. 137: 13 pp. 675-679

72. Gidali J, Feher I, Harsanyi V, Reti M Blast colony forming cells in umbilical cord blood: Frequency and correlation to other haemopoietic progenitors (1996) *Hamatologica* (Budapest) 28: 1 pp. 27-32.
73. **Réti M**, Harsányi V, Szabó J, Petrányi Gy. (1996) Vértképzőszövetek fehérvérsejt-tartalmának káros és előnyös hatásai. „Fehérvérsejtmentes” vértképzőszövetek indikációi. II. rész. *LAM*, 6;166-172
74. **Réti M**, Harsányi V, Szabó J, Petrányi Gy. (1996) Vértképzőszövetek fehérvérsejt-tartalmának káros és előnyös hatásai. „Fehérvérsejtmentes” vértképzőszövetek indikációi. I. rész. *LAM* 6;(2):4-91
75. Milosevits J, Pócsik E, Schmidt B, Reményi P, Intődi ZS, **Réti M**, Batai A, Illés P, Mihalik R, Petrányi GG, et al. (1995) Immunophenotypic and functional characteristics of haemopoietic cells from human cord blood. *Scand J Immunol.* Oct;42(4):493-500. **IF: 1,836**
76. Petrányi G, Padányi A, Szelényi J, Sármay G, Gyódi E, Fülöp V, Kassai M, Illés P, **Réti M**, Szigetvári I, et al. (1995) The polymorphic human TLX-B/CD46/MCP system and its implications in transplantation and reproduction. *Eur J Immunogenet.* Apr;22(2):147-61. **IF: 1,556**
77. **Réti M**, Gidáli J, Vörös Jné, Harsányi V, (1995) Egyszerű módszer csontvelő szeparálására. *Transzfúzió* pp. 48-51
78. Fülöp V, Szigetvári I, **Réti M**, Petrányi Gy, Gáti I. (1992) A habituális vetélők immunterápiájának új módszere. *Magyar Nőorvosok Lapja* 55: 1 pp. 23-26, 4 p.
79. Pócsik E, Mihalik R, **Réti M**, Gyódi E, Pálóczi K, Mayer K, Kassai M, Herold M, Huber C, Petrányi GG, et al. (1990) Differences in non-MHC restricted cytotoxic activities of human peripheral blood lymphocytes after transfusion with allogeneic leukocytes or platelets possessing class I and/or class II MHC molecules. *Immunobiology.* Dec;182(1):22-31. **IF: 1,473**
80. Padányi A, Gyódi E, Sármay G, **Réti M**, Mayer K, Kassai M, Petrányi GG. (1990) Functional and immunogenetic characterization of FcR-blocking antibody. *Immunol Lett.* Nov;26(2):131-7. **IF: 1,435**
81. Horuzsko A, Gyódi E, **Réti M**, Onody K, Perner F, Kassay M, Petrányi GG. (1990) Non-cytotoxic blocking antibodies and suppressor cells induced by donor-specific

transfusions in healthy volunteers and potential kidney transplant recipients. Immunol Lett. Nov;26(2):127-30. **IF: 1,435**

82. Pócsik E, Mihalik R, Gyódi E, **Réti M**, Pálóczi K, Petrányi GG, Benczúr M. (1990) Activation of lymphocytes after platelet allotransfusion possessing only class I MHC product. Clin Exp Immunol. Oct;82(1):102-7. **IF: 2,494**
83. Horuzsko A, Gyódi E, **Réti M**, Mayer K, Kassay M, Petrányi G. (1990) Selective effect of noncytotoxic blocking alloantibodies produced after platelet transfusions on MLC, and mitogen and soluble antigen-induced responses of human lymphocytes. Transplantation. Sep;50(3):497-501. **IF: 2,867**
84. Petranyi GG, Padanyi A, Horuzsko A, Rethy M, Gyodi E, Perner F. (1988) Mixed lymphocyte culture-evidence that pretransplant transfusion with platelets induces FcR and blocking antibody production similar to that induced by leukocyte transfusion Transplantation 45: 4 pp. 823-824. **IF: 2,981**
85. Intódy Zs, Lontainé Santora Zs, **Réti M**, Hajdú K, László J. (1987) Magzati ABO és Rh vércsoport meghatározása a terhesség első trimeszterében. Magyar Nőorvosok Lapja 50 pp. 269-271

A Központi Könyvtár igazolása:

- Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények összesített impaktfaktor értéke: 12,059
- Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények összesített impaktfaktor értéke: 185,454
- I.+II. A könyvtári adatlapon feltüntetett közlemények összesített impaktfaktor értéke: 197,513

11 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Témavezetőmmel, Dr. Prohászka Zoltán professzor úrral kb. 2008-óta óta dolgozom együtt. Hálásan köszönöm neki a komplement cikk, a TTP-HUS irányelv és sok más közös publikáció, valamint jelen disszertáció megírásához nyújtott nagyon sok munkáját és támogatását, valamint a több, mint egy évtizedes töretlen együttműködést. A betegeim nevében is szeretném megköszönni neki, hogy Magyarországon megteremtette a TTP-HUS komplex diagnosztikájának lehetőségét és elérhetőségét. Olyan valós idejű szolgáltatás nyújt, amely terén irigylésre méltó a helyzetünk Európában. Köszönöm minden munkatársának, de különösen Dr. Sinkovits Györgynek a rengeteg számunkra végzett lelkes munkáját. Dr. Masszi Tamás professzor úrral 1994-óta évtizedeken át dolgoztam együtt a Dél-pesti Centrumkórház Hematológia és Óssejt-transzplantációs Osztályán. Főnökként, munkatársként és magán emberként is mindig, mindenben támogatott, az élet minden területén számíhattam rá, amiért végtelen hálával tartozom neki. Köszönöm továbbá jelen disszertációhoz és a házi védelemhez nyújtott segítségét. Köszönöm Dr. Horváth Laurának, hogy elvállalta házi védelemre az oppenensi feladatokat. Szeretném megköszönni minden volt és jelenlegi főnökeimnek és munkatársaimnak, akik a TTP-HUS betegek kezelésében és gondozásában az elmúlt közel négy évtized alatt részt vettek, különösen kiemelve Dr. Király Ágnes, Dr. Farkas Zita, Dr. Várkonyi Andrea, Dr. Bogsch Luca, Dr. Fodor Anikó, Dr. Goda Vera, Dr. Tremmel Anna, Dr. Rásonyi Rita, Dr. Kalász László, Dr. Tóth Anikó, Dr. Kilián Katalin, Dr. Medek Sarolta, a DPC Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály, a Központi Anaesthesiológia és Intenzív Betegellátó Osztály, a Központi Laboratórium, és a volt OHII Hematológia és Hemapheresis Osztály dolgozóinak gondos tevékenységét. Nagyon köszönöm Baán Julianna vezető asszisztensünknek és a többi volt és jelenlegi apheresis munkatársaknak azt a példamutató emberi és szakmai hozzáállását, mely nélkül igen nehéz lenne a betegek ellátása. Köszönöm Dr. Bodó Imrének a Dr. Flora Peyvandival való kapcsolathoz és a minták kiszállításához nyújtott segítségét. Köszönöm az OVSZ-nek, hogy mindig előteremtette azt az elképzelhetetlenül sok friss fagyasztott plazmát, amire szükségünk volt a betegek kezeléséhez. Köszönöm barátnőm, Dr. Jakab Judit irántam tanúsított végtelen türelmét. Utoljára, de nem utolsó sorban, köszönöm családomnak, különösen nagybátyámnak, Dr. Réti Bélának és Feleségének, hogy annak idején lehetővé tették egyetemi tanulmányaimat.

ORIGINAL ARTICLE

Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura

M. RÉTI,^{*,1} P. FARKAS,^{†,1} D. CSUKA,[†] K. RÁZSÓ,[‡] Á. SCHLAMMADINGER,[‡] M. L. UDVARDY,[§] K. MADÁCH,[¶] G. DOMJÁN,^{**,*} C. BEREZKI,^{††} G. S. REUSZ,^{‡‡} A. J. SZABÓ^{‡‡} and Z. PROHÁSZKA^{†§§}
^{*}Department of Hematology and Stem Cell Transplantation, St István and St László Hospital of Budapest; [†]3rd Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest; [‡]2nd Department of Medicine, University of Debrecen, Debrecen; [§]Clinical Research Center, University of Debrecen, Debrecen; [¶]Department of Anaesthesiology and Intensive Therapy, Semmelweis University, Budapest; ^{**}1st Department of Internal Medicine, Semmelweis University; ^{††}Department of Pediatrics, University of Szeged, Szeged; ^{‡‡}1st Department of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest; and ^{§§}Research Group of Inflammation Biology and Immunogenomics, HAS-SU, Budapest, Hungary

To cite this article: Réti M, Farkas P, Csuka D, Rázsó K, Schlamadinger Á, Udvardy ML, Madách K, Domján G, Bereczki C, Reusz GS, Szabó AJ, Prohászka Z. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012; **10**: 791–8.

Summary. *Background:* Ultra-large von Willebrand factor and deficiency of its cleaving protease are important factors in the events leading to thrombotic microangiopathy; however, the mechanisms involved are only partly understood. Whereas pathological activation of the alternative complement pathway is linked to atypical hemolytic uremic syndrome, the role of complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is unknown. The aim of this study was to investigate whether signs of complement activation are characteristic of TTP. *Patients and methods:* Twenty-three patients with TTP (18 women, median age 38 years) and 17 healthy controls (13 women, median age 38 years) were included. Complement parameters (C3, Factors H, I, B and total alternative pathway activity) together with complement activation fragments (C3a) or complexes (C1rs-INH, C3bBbP, sC5b9) were measured by ELISA or RID. ADAMTS13 activity and anti-ADAMTS13 inhibitory antibodies were measured by the VWF-FRET73 assay. *Results:* Increased levels of C3a, and SC5b9 were observed in TTP during acute episodes, as compared with healthy controls. Decreased complement C3 levels indicative of complement consumption occurred in 15% of acute TTP patients. Significant decrease of complement activation products C3a and SC5b9 was observed during plasma exchange (PEX). The sustained presence of anti-ADAMTS13 inhibitory antibodies in complete remission was associated with increased complement activation. *Conclusion:* These data document in

an observational study the presence of complement activation in TTP. Further investigation is needed to determine its potential pathogenetic significance.

Keywords: ADAMTS13 inhibitor, complement activation, TTP.

Introduction

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a life-threatening disease characterized by microvascular platelet-rich thrombi leading to multiple organ failure [1]. The main clinical features are consumptive thrombocytopenia, microangiopathic hemolytic anemia, neurological dysfunction, renal failure and fever. The plasma of patients contains ultra-large von Willebrand factor (ULVWF) multimers at disease onset, which are highly reactive with platelets. ULVWF multimers are secreted into the plasma by endothelial cells and platelets and rapidly processed into smaller and less reactive multimers by cleavage of VWF-cleaving protease [2]. VWF-cleaving protease is the 13th member of the ADAMTS (a-disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs) family, ADAMTS13. Two mechanisms for deficiency of ADAMTS13 activity have been identified: in the majority of TTP patients inhibitory autoantibodies against ADAMTS13 are present [3], whereas in about 10% of the patients mutations of the ADAMTS13 gene cause congenital deficiency of the protease and result in a familial, autosomal recessive form of TTP [4].

The functional deficiency of ADAMTS13 plays a substantial role in the development of TTP, but its deficiency is not sufficient alone to cause TTP. Environmental factors and genetic modifiers may contribute to the full-blown manifestation of the disease. As suggested earlier, genes encoding proteins involved in the regulation of the coagulation cascade, VWF, or platelet function, components of the endothelial vessel surface or the complement system may be implicated in

Correspondence: Zoltán Prohászka, 3rd Department of Medicine, Semmelweis University, H-1125 Budapest, Kútvölgyi st. 4, Budapest 1125, Hungary.

Tel.: +36 1 3251379; 36 20 8250962; fax: +36 1 2129351.

E-mail: prohoz@kut.sote.hu

¹These two authors contributed equally to this work.

Received 8 July 2011, accepted 13 February 2012

susceptibility to develop thrombotic microangiopathy [5]. Previous findings suggest that abnormalities of complement activation may contribute to the development of thrombotic microangiopathy in patients with ADAMTS13 deficiency. Platelet-associated C3 was reported in patients with TTP [6], and low levels of C3 (indicative of complement activation and consumption) were also observed in four out of six patients with acute ADAMTS13-deficient TTP [7]. Ruiz-Torres [7] documented for the first time that complement initiated neutrophil activation and endothelial injury may have a crucial role in microvascular thrombosis in TTP patients with congenital or acquired ADAMTS13 deficiency. In this study, serum from patients with thrombotic microangiopathy was shown to cause C3 and membrane attack complex deposition and surface expression of P-selectin on the human microvascular endothelial cell line. The same sera also stimulated neutrophils to release reactive oxygen species and proteinases, leading to endothelial cell damage. All of these effects were abrogated by complement inactivation, confirming the important role of complement activation in TTP.

In line with these observations, some precipitating clinical factors, such as infections and pregnancy, are potential triggers of complement activation; however, most TTP patients present without triggers. On the other hand, epidemiologic evidence of an association between complement activation and TTP is missing. In addition, the activating pathway(s) of, and clinical factors associated with, complement activation in TTP are unknown. Furthermore, no information on the effect of plasma exchange on complement activation product levels in patients with TTP is available so far.

Therefore, we hypothesized that complement activation may associate with acute, ADAMTS13-deficient TTP and potentially contribute to the development of thrombotic microangiopathy. Accordingly, the aim of the current study was to formally investigate in a case-control design the association of complement activation with acute TTP, to examine the activation pathway(s) involved, and to assess whether complement activation products change during plasma exchange therapy.

Materials and methods

Patients and definitions

Twenty-three patients with TTP were enrolled in this single-research laboratory-based investigation providing diagnostic services (ADAMTS13 and complement measurements) since August 2007 for patients suspected of having HUS or TTP in Hungary. The patient enrollment was closed in January 2011. The following criteria were used to guide patient and sample selection.

Diagnosis of TTP was based on one or more episodes of Coombs-negative microangiopathic hemolytic anemia with thrombocytopenia defined as serum lactate dehydrogenase (LDH) $> 450 \text{ U L}^{-1}$, fragmented erythrocytes in the peripheral blood smear and platelet count $< 150 \text{ G L}^{-1}$; only

patients with severely decreased ADAMTS13 activity levels ($< 5\%$) were included in this study. Patients with acute oligo-anuric renal failure were excluded from the study. Hematological remission (HR) was determined when platelet counts were $> 150 \text{ G L}^{-1}$ on two consecutive days without any sign of hemolysis even if there were any neurological, renal or other residual clinical symptoms, whereas complete remission (CR) was established when platelet count remained above the lower limit continuously for at least 1 month. Relapse was considered if disease activity reappeared after 1 month of platelet count continuously higher than 150 G L^{-1} , and exacerbation was considered if TTP reactivated within 1 month.

Blood samples taken during an acute TTP episode (before the initiation of plasma exchange [PEX]-series, during PEX-series (taken before the next plasma exchange), within 2 weeks after stopping of PEX-series and also in CR) were available for 13 patients. The replacement fluids were 5% human albumin (30–50% of total volume of substitution fluid) followed by fresh frozen plasma (50–70% of total volume of substitution) to reduce the number of donor exposures. In another 10 TTP patients, samples taken only in complete remission were available, at the time-point of our investigations 4/10 had normal ADAMTS13 activity, but all of them had history of ADAMTS13 deficiency with inhibitors.

Healthy controls ($n = 17$) were selected according to age and gender from a consecutive series of healthy subjects recruited in an outpatient department providing regular health check-ups for healthy employees on a mandatory basis. Twenty-three per cent of the control women had history of pregnancy.

Blood samples (EDTA-anticoagulated plasma, sodium-citrate anticoagulated plasma and native serum) were taken by antecubital venipuncture or from a central catheter, and cells and supernatant separated by centrifugation and shipped in cooled packages ($-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) to the research laboratory, where aliquots were made and stored in ultrafreezers at $< -70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ until determinations.

Determination of the complement proteins and complement activation products

Complement C3 (Roche Cobas Integra 800 (Tina-quant[®] C3c 2. ver. Cat. No.: 3001938, reference range $0.9\text{--}1.8 \text{ g L}^{-1}$), factor I and factor B (radial immunodiffusion, reference range for both, 70–130%) and factor H (sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), $127\text{--}447 \text{ mg L}^{-1}$) levels and total alternative pathway activity (Wieslab Comp AP330 kit, 70–105%, Euro Diagnostica, Malmö, Sweden) were measured in serum samples. Levels of fragments C3a (MicroVue C3a desarg EIA A031, mean of healthy controls 129.6 ng mL^{-1}), C4d (MicroVue C4d EIA, A008, mean + 2 SD range $0.7\text{--}6.3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) and SC5b-9 (MicroVue SC5b-9 Plus EIA, A020, mean of healthy controls 200 ng mL^{-1} , SD 85) were determined with commercial kits (Quidel, San Diego, CA, USA) according to the manufacturer's instructions in EDTA plasma samples. Within- and between-run coefficients of

variations of the assays, as tested in our laboratory, were < 5.5% or < 13.5%, respectively.

Measurement of the complement activation product C3bBbP

The concentration of C3bBbP was determined with ELISA based on Cat *et al.* [8], with some modifications [9]. In brief: plates (Nunc, Maxisorp F96, Nunc GmbH, Langensfeld, Germany) were coated with 1:1000 diluted goat anti-human properdin (Incstar Corporation, Incstar, Stillwater, MN, USA) and after blocking 1:10 diluted EDTA-plasma samples and standards (normal human serum activated with zymosan, 1:100–1:12 800 diluted) were applied and developed by biotin-conjugated rabbit anti-human C3c (Dako, Dako Glostrup, Denmark) and streptavidin-peroxidase conjugate (Jackson ImmunoResearch, UK; Jackson West Grove, PA, USA). Concentrations are expressed in units per mL sample: 1000 units correspond to the C3bBbP-content of 1 mL 1:10 diluted, zymosan-treated normal human serum (considered as full activation of alternative pathway). Typical values of healthy adults are mean 3.4 U mL^{-1} and SD 1.03, and within- and between-run CV% < 5% and < 15%, respectively [9].

Measurement of C1rC1sC1-inh complex

The serum concentration of C1rC1sC1-inh was determined by ELISA [8] as described, with some modifications [9]. In brief: plates (Nunc, Maxisorp F96) were coated with 1:500 diluted rabbit anti-human C1-inh (Dako), after blocking 1:200 diluted EDTA-plasma samples and standards (normal human serum activated with heat-aggregated IgG, 1:500–1:32 000 diluted) were added, followed by 1:500 diluted goat anti-human C1s (DiaSorin, DiaSorin Saluggia, Italy) developed by 1:1000 diluted peroxidase-conjugated rabbit anti-goat IgG (Jackson ImmunoResearch). Concentrations are expressed in units per mL of sample; 1000 units correspond to the C1rC1sC1-inh-content of 1 mL 1:500 diluted normal serum, treated with heat-aggregated IgG (considered as full activation of classical pathway). Typical healthy control values are mean 5.72 U mL^{-1} and SD 6.8; within- and between-run CV% < 15% [9].

Determination of ADAMTS13 activity

The fluorogenic substrate, FRETs-VWF73, was applied for the determination of ADAMTS13 enzyme activity as described [10]. Briefly, citrated plasma was diluted 1:20 in assay buffer (5 mM Bis-Tris, 25 mM CaCl₂, 0.005% Tween 20, pH 6.0) and mixed with 5 μM FRETs-VWF73 substrate solution (20 μL each), in white 384-well plates. Fluorescence was measured at 37 °C every 2 min for 1 h in a Chameleon microplate reader (Hidex, Turku, Finland) equipped with a 340 nm excitation and a 460 nm emission filter. The reaction rate was calculated by linear regression analysis of fluorescence over time. A 2-fold dilution series of normal human plasma (mixed from citrated

plasma samples of 10 healthy blood donors) was applied as standard curve, and 100% ADAMTS13 activity was set at the reaction rate observed in the 1:20 diluted sample. The intra-assay variation coefficient was < 5%, and the inter-assay CV% was 6–9% (measured at 60% and 100% activity levels). The presence of anti-ADAMTS13 inhibitors was determined by mixing one part of the patient's sample with one part of normal pooled plasma, incubation at 37 °C for 2 h, and measurement of ADAMTS13 activity of the sample. The presence of ADAMTS13 inhibitors was considered if the patient's original sample had < 7% activity, and that of the mixed sample was < 50%.

Statistical analysis

The continuous variables reported in this study showed skewed distribution and according to the results of the Shapiro–Willk's test deviated from the normal distribution. Therefore, for descriptive purposes the values of each measurement are given as median and 25th–75th percentile or as numbers (per cent) and non-parametric tests were used for group comparisons; continuous variables between two groups were compared with the Mann–Whitney *U*-test, for three or more groups with the Kruskal–Wallis ANOVA by ranks test, and for repeated measures with the Friedman test. Dunn's post-test was used for group comparisons after analysis of variance. Pearson's correlation coefficients were calculated on log-transformed variables. Statistical analyses were carried out using STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA), SPSS 13.01 (Apache Software Foundation, Chicago, DW, USA) and GRAPHPAD Prism 4.03 (GraphPad Softwares Inc., La Jolla, CA, USA) softwares. Two tailed *P*-values were calculated and the significance level was put at a value of *P* < 0.050.

Results

Description of the patient cohort

Clinical characteristics of the patients and controls are presented in Tables 1 and 2. Median age of the TTP patients was 38 years (IQ range 31–44), whereas in the healthy control group it was 38 (31–46) years. The ratio of women to men (18/5 in patients and 13/4 in controls) was similar in patients and controls, and the BMI values of the study groups were similar (*P* > 0.05). On average, the first TTP episode presented in our patients at the age of 36 years, and there was a mean total number of episodes of 2.0/patient present. As for treatment regiment, taking all of the 47 episodes of the 23 patients into account, the following medications were applied: corticosteroids 100%, cyclophosphamide 52%, acetylsalicylic acid 43%, rituximab 22%, vincristine 30%, azathioprine 22%, intravenous immunoglobulin 9%, Asasantin (dipyridamole + acetylsalicylic acid) or Persantin (dipyridamole) 13%, LMWH 4%, and two patients received ticlopidine in 1996. Splenectomy was carried out in three (13%) patients. Neurological signs

Table 1 Clinical data of the 23 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura

Registry code	Gender	Age at first episode	First TTP episode	Last TTP episode	Total no. of TTP episodes	Severe ADAMTS13 deficiency with inhibitor	Therapy (cumulative, all episodes)	Clinical symptoms (current/last episode)	No. of PEX sessions (current episode)
Acute TTP patients									
HUN1	W	26	2007	2010	3	Yes	S, IVIG, Rit	N	15
HUN15	M	55	2008	2008	1	Yes	S, Cy	Abd	10
HUN23	M	38	2008	2008	1	Yes	S	R, Abd	12
HUN56	W	40	2006	2010	2	Yes	S, Cy, Asasantin, LMWH	N	8
HUN62	W	17	1991	2009	4	Yes	S, Cy, Persantin, ASA	N, Abd	15
HUN68	M	43	2010	2010	1	Yes	S, Cy	N	19
HUN72	W	13	2010	2010	1	Yes	S, Cy, Rit	N, abd	15
HUN76	W	58	2010	2010	1	Yes	S, Cy, ASA	N	7
HUN85	W	49	2010	2010	1	Yes	S, Cy, IVIG, ASA, VCR, Rit	N	38
HUN86	W	42	2010	2010	1	Yes	S, Cy, ASA	N, Abd	9
HUN126	M	36	2010	2011	2	Yes	S, Cy, Rit	None	28
HUN127	W	30	2010	2010	1	Yes	S, Rit	N	9
HUN131	W	39	2006	2011	2	Yes	S, ASA	None	4
TTP patients in complete remission									
HUN3	M	29	1999	2006	3	Yes	S, PEX	N	NA
HUN28	W	35	2008	2008	1	Yes	S, AZA, PEX	N, R, Abd	NA
HUN31	W	31	2008	2008	1	Yes	S, PEX	None	NA
HUN53	W	35	1994	1998	2	Yes	S, AZA, ASA, Asasantin, PEX	N	NA
HUN58	W	20	1983	2010	3	Yes	S, Cy, AZA, VCR, PEX, ASA, Spl	N	NA
HUN65	W	21	1995	2002	6	Yes	S, AZA, VCR, ticlopidin (in 1995), Spl, PEX	N, R, Abd	NA
HUN70	W	44	2006	2006	1	Yes	S, Cy, VCR, PEX	N	NA
HUN78	W	38	2001	2001	1	Yes	S, VCR, ASA, PEX	N, R, Abd	NA
HUN89	M	19	1996	2003	4	Yes	S, VCR, ticlopidin (in 1996), ASA, PEX	N	NA
HUN115	W	41	2000	2006	4	Yes	S, Cy, VCR, AZA, ASA, Spl, PEX	N, Abd	NA

Abd, abdominal complaints; ASA, low-dose acetylsalicylic acid; AZA, azathioprine; Cy, cyclophosphamide; N, neurological signs; PEX, plasma exchange; R, renal function deterioration; S, corticosteroid; Spl, splenectomy; VCR, vincristine.

(78%), abdominal complaints (39%) and renal function deterioration (17%) accompanying the last (current) TTP episode, were present in the patients, whereas 13% had hematological symptoms only. All of the patients were screened for autoantibodies against complement factor H, and none of them was found to be positive. None of the patients has been diagnosed according to the ARA criteria as having SLE, antiphospholipid syndrome or any other systemic autoimmune disorder, based on testing of antinuclear-, anti-dsDNA, anti-cardiolipin autoantibodies, lupus anticoagulant and typical clinical signs. Documented triggering factors antecedent to acute TTP episodes were infrequent in this TTP cohort; only 2/23 pregnancies, 1/23 missed abortion and sepsis and 3/23 infections were documented. For patients seen with acute TTP episode a total of 15 (mean, 4–38, range) PEX sessions were required to reach remission. All of the 10 patients seen only during remission were previously successfully treated with therapeutic plasma exchange during acute TTP episodes.

Complement activation in TTP

As presented in Table 2, complement protein C3, factor I and alternative pathway activity levels were the same in the groups, whereas factor B and factor H concentrations were higher in TTP patients, significantly in complete remission as compared with healthy controls ($P < 0.05$). A decreased complement C3 level ($< 0.9 \text{ g L}^{-1}$), indicative of severe complement activation and consumption, did occur in 2/13 acute patients (15%).

Complement activation products, characteristic of the classical/lectin pathway (C1rs-INH, C4d), alternative pathway (C3bBbP), terminal pathway (SC5b-9) and all pathways (C3a) were also measured in the patients. As presented in Table 2, higher C3a and SC5b-9 levels were observed in TTP patients, as compared with healthy controls, and this difference was statistically significant in patients with an acute TTP episode, before the initiation of PEX (both $P < 0.01$). C1rs-INH complex, alternative pathway activation product (C3bBbP) and C4d levels were similar in the groups investigated.

Table 2 Complement protein and activation product levels of the study groups

Parameter	Acute TTP, before PEX-series, <i>n</i> = 13	TTP, complete remission, <i>n</i> = 10	Healthy control, <i>n</i> = 17	Kruskal–Wallis or χ^2 test, <i>P</i>
Age at blood draw (years)	42 (32–46)	37 (29–45)	38 (31–46)	0.543
Gender (f/m)	9/4	9/1	13/4	0.346
BMI	25.7 (23.2–30.0)	27.2 (22.4–35.1)	24.5 (20.7–28.1)	0.271
Complement C3 (g L ⁻¹)	1.49 (1.14–1.90)	1.56 (1.46–2.12)	1.2 (1.06–1.45)	0.158
Alternative pathway activity (%)	96 (83–101)	94 (81–104)	83 (75–98)	0.551
Factor B (%)	114 (92–138)	127 (111–155)*	92 (77–111)	0.013
Factor I (%)	126 (101–146)	114 (106–130)	107 (81–122)	0.087
Factor H (mg L ⁻¹)	385 (283–538)	622 (401–697)*	301 (211–397)	0.032
C1r-C1s-C1INH (U mL ⁻¹)	8.81 (5.11–13.33)	4.51 (3.11–9.97)	7.18 (4.01–9.61)	0.224
C4d (mg L ⁻¹)	1.39 (3.16–4.48)	2.67 (1.78–3.57)	2.15 (1.46–3.80)	0.748
C3bBbP (U mL ⁻¹)	1.99 (1.34–6.80)	2.21 (1.59–3.31)	1.71 (1.32–2.99)	0.496
Anaphylatoxin C3a (ng mL ⁻¹)	195 (170–514)***	133 (117–221)	103 (80–138)	0.001
SC5b-9 (ng mL ⁻¹)	301 (242–424)**	241 (216–330)	181 (141–283)	0.006

p* < 0.05; *p* < 0.01; ****p* < 0.001.

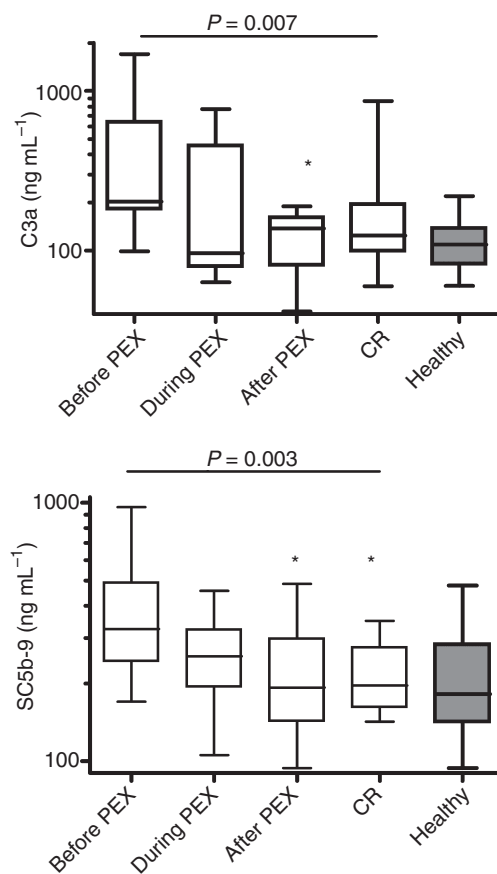


Fig. 1. Changes of complement activation product levels in TTP patients during a series of therapeutic plasma exchange. Results (median, IQ-range and minimum-maximum values) of TTP patients with available pre-PEX and follow-up samples (*n* = 13) are displayed. *P*-values of Friedman tests are indicated, * indicates if *P* < 0.05 of Dunn's post-test, as compared with before PEX.

The course of complement activation during PEX in TTP patients

In Fig. 1, data are presented for the 13 acute TTP patients for whom blood samples were available before, during and

after the PEX-series. According to the results of paired, non-parametric analysis of variance, the complement activation product C3a and SC5b-9 levels significantly declined during the PEX-series (all *P* < 0.05). There was an immediate decrease of C3a and SC5b-9 concentrations in samples taken during a series of PEX sessions and/or right after stopping PEX (all *P* < 0.05, Dunn's post-test), and complement activation products remained low during CR. If C3a and SC5b-9 levels were analyzed in TTP patients and healthy controls together by means of Kruskal–Wallis ANOVA the differences were significant (*P* = 0.002 for C3a and *P* = 0.033 for SC5b-9), and the results of Dunn's post-test showed that C3a (*P* < 0.01) and SC5b-9 (*P* < 0.05) levels were significantly higher in the 'before PEX' group as compared with healthy controls. The decrease of these complement activation markers during and right after PEX was characteristic for all 13 patients, and was accompanied by an increase in platelet counts and achieving hematological and complete remission (data not shown).

ADAMTS13 inhibitor as an initiating factor of complement activation in TTP

ADAMTS13 inhibitor was present in all of our patients with acute TTP before the initiation of the PEX-series, and ADAMTS13 inhibitor turned out to be negative in eight of these 13 patients after achieving complete remission. We analyzed whether the disappearance of ADAMTS13 inhibitor was associated with decline of complement activation product levels during the PEX-series. As shown in Fig. 2, a clear decline was observed for C4d, C3bBbP and C3a fragments in the ADAMTS13 inhibitor-negative group, while in the inhibitor-positive group these activation product levels did not decrease or increase.

Initiating pathways of complement activation in TTP

The characteristic feature of complement activation in acute TTP was the presence of activated C3 (C3a) and terminal

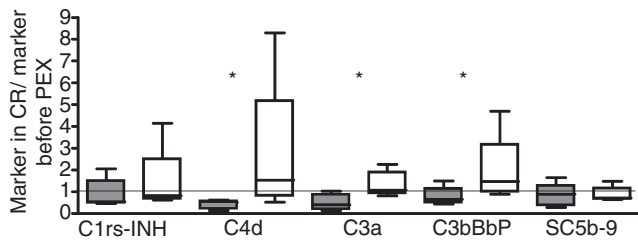


Fig. 2. Changes (CR/acute) of complement activation product levels measured before and after PEX-series, according to the ADAMTS13 inhibitor status in remission. All patients with acute TTP ($n = 13$) were ADAMTS13 inhibitor positive before the initiation of PEX-series, those who remained inhibitor positive after reaching complete remission are marked as clear ($n = 5$), whereas those who became ADAMTS13 inhibitor negative are marked as grey ($n = 8$). P -values < 0.05 obtained in Mann–Whitney tests are marked with asterisks, comparing inhibitor negatives and positives.

complement complex (SC5b-9). Therefore we searched for associated clinical factors and biochemical markers by means of correlation analysis. The analysis was limited to the 13 patients with acute TTP and with available samples before the PEX-series. As shown in Table 3, a strong positive correlation was observed between activation markers C4d (classical and lectin pathways), C3bBbP (alternative pathway) and C3a or SC5b-9, respectively. Furthermore, C4d and C3bBbP levels also correlated with each other ($r = 0.657$, $P = 0.015$). The levels of the classical pathway marker C1rs-INH showed a weak, borderline correlation with C3a ($r = 0.531$, $P = 0.061$) and C4d ($r = 0.528$, $P = 0.064$).

Discussion

Here we report that increased plasma levels of complement activation products were associated with acute TTP, showed a clear decrease when plasma exchange therapy was initiated, and were accompanied by an increase in platelet numbers and achieving clinical remission. Pathological over-activation with consumption of complement factors was observed in 15% of our acute ADAMTS13-deficient TTP patients, and clear-cut activation of the classical/lectin and alternative pathways with initiation of the terminal pathway was obviously shown. The sustained presence of ADAMTS13 inhibitor after acute TTP was associated with constantly high levels of complement activation product levels, including C4d, C3a and C3bBbP, even after achieving clinical remission, while disappearance of ADAMTS13 inhibitor was linked to decline of C4d and C3a

levels in complete remission, indicative of the low level activation of classical/lectin pathways. Our results indicate that the complex therapy of an acute TTP episode (PEX series and immunosuppressive treatment) results in the disappearance of ADAMTS13 inhibitors and also in the decrease of complement activation.

Earlier Ruiz-Torres *et al.* [7], studying TMA patients with congenital ADAMTS13 deficiency and patients with ADAMTS13 inhibitors, reported that four out of six patients (66%) had moderately decreased C3 levels in the acute phase of the disease, indicative of complement activation and consumption. In our study we observed decreased C3 levels in 2/13 TTP patients in the acute phase (Fig. 1). The lower frequency of C3 decrease in our cohort, as compared with the six patients with TMA in the study of Ruiz-Torres, may be related to patient selection, because we did not include patients with the congenital form of TTP.

As TTP due to the presence of anti-ADAMTS13 inhibitors can also be considered as an immune-complex disease, our findings may represent an epiphenomenon of this process. Indeed, the activation of the C3a and terminal pathway was, rather weakly, linked to activation levels of the classical pathway. Furthermore, the sustained presence of ADAMTS13 inhibitor in complete remission was also linked to increased complement activation.

However, previous literature data and our current observations may also indicate that activation of complement plays a pathogenic role in TTP due to ADAMTS13 deficiency with inhibitors. According to the ‘two-hit model’, deficiency of ADAMTS13 predisposes to microvascular thrombosis but TTP supervenes only after a triggering event occurs. The nature of these triggering events is poorly understood currently, because the vast majority of TTP patients present without obvious clinical triggers. Potential triggering events include common infections and pregnancy, both known by their endothelial cell activating ability with increased secretion of ultra-large VWF and P-selectin expression. Interestingly, infections and pregnancy may also induce activation of the complement system. Soluble complement activation related mediators, including anaphylatoxins and the terminal complement complex SC5b-9, may directly activate endothelial cells [11,12], neutrophils [13,14] and platelets [15,16]. Indeed, plasma of TTP patients was shown to induce apoptosis of endothelial cells and platelets [17–20] and activation of neutrophils and monocytes [21], leading to the formation of platelet-leukocyte

Table 3 Correlation between complement activation product concentrations in the samples of patients with acute TTP, before the initiation of PEX-series ($n = 13$)

Variable	C1r-C1s-C1-INH	C4d	Bb	C3bBbP	C3a
SC5b-9	0.183 (0.548)*	0.727 (0.017)	−0.209 (0.493)	0.714 (0.006)	0.762 (0.003)
C3a	0.531 (0.061)	0.661 (0.014)	0.056 (0.854)	0.764 (0.002)	–
C3bBbP	0.255 (0.401)	0.657 (0.015)	−0.009 (0.975)	–	–
Bb	0.396 (0.181)	0.308 (0.307)	–	–	–
C4d	0.528 (0.064)	–	–	–	–

*Pearson correlation coefficients and P -values were calculated after log-transformation of the variables. Statistically significant correlations are marked in bold.

complexes [22]. Zwart *et al.* [23] showed that complement binding to apoptotic cells occurs in human plasma, and that the dominant mechanism involves classical pathway activation by IgM. In addition, complement activation by direct C1q binding to apoptotic blebs was also shown [24].

Several of our observations support the theory that complement activation in acute TTP patients may be, at least partly, initiated via the classical pathway by immune complexes and/or apoptotic cells. A strong correlation between C4d levels (indicative of classical and/or lectin pathway activation) and C3a and SC5b-9 was observed (Table 3). In addition, a sustained presence of ADAMTS13 inhibitors after treatment of acute TTP was linked to high levels of C4d, C3bBbP and C3a, indicating the presence of ongoing complement activation through classical and alternative pathways (Fig. 2). Moreover, in TTP patients in complete remission, the presence of ADAMTS13 inhibitor was tentatively related to increased levels of C4d. It is known that ADAMTS13 inhibitors may belong to IgG (100%), IgA (21%) or IgM (7%) classes [25] with all IgG subclasses occurring. The most prevalent (23%) anti-ADAMTS13 IgG subclass combination in the study of Ferrari *et al.* [25] was to have all (IgG1 to 4) subclasses. The human immunoglobulin classes and IgG subclasses differ in their ability to induce complement activation: while IgG1 and 3 mainly initiate the classical pathway through C1q, at high epitope density and antibody excess IgG2 may initiate the alternative pathway like IgA [26]. Ferrari *et al.* [25,27] reported that 82–94% of the TTP patients in the acute first episode and 27–36% of patients with recurrent episodes had either of the complement activating IgG1, two or three, or IgA ADAMTS13 inhibitor; however, the presence of IgA inhibitors was mainly linked to that of IgG. Furthermore, it was recently also demonstrated by co-immunoprecipitation that circulating ADAMTS13 with immunoglobulins (ADAMTS13-specific IgG-IC) was present in a patient with refractory TTP, and the ADAMTS13-IgG-ICs followed an inverse kinetics to both the free IgG anti-ADAMTS13 autoantibody and ADAMTS13 activity [28]. It was concluded in the study by Ferrari *et al.* [28], that formation of ADAMTS13-specific immune complexes capturing all freely available ADAMTS13 should be considered in patients who are refractory to treatment. Although we did not look directly for ADAMTS13 immune complexes in our study, the observations on circulating ADAMTS13 immune complexes [28] and our above results on the presence of complement activation via the classical/lectin pathways, especially in patients with sustained presence of ADAMTS13 inhibitors, together indicate that circulating ADAMTS13 immune complexes may initiate complement activation in patients with TTP and contribute to the microangiopathic process.

We acknowledge potential limitations of our study. TTP is a rare disorder, and we were unable to enrol more patients in a reasonable short time-frame allowing the correct analysis of complement activation. Therefore, due to the low number of patients some of the analyses presented here are underpowered,

and may be inconclusive, and therefore some of the conclusions have to be taken as preliminary, until independent confirmation is published. The study of patients with congenital ADAMTS13 deficiency would have helped to find out the role of ADAMTS13 inhibitor more exactly, but unfortunately, no such patients have been diagnosed in our centre until the end of our study. Moreover, because ADAMTS13 deficiency as a result of two heterozygous mutations (causing V88M and G1239V changes) together with a heterozygous mutation (causing an S890I change) in factor H of complement was found previously in a family [29], screening of complement genes previously associated with thrombotic microangiopathy would have been informative in our cohort, in relation to complement activation.

In conclusion, here we report the first clinical evidence of increased complement activation in acute TTP, and that therapeutic plasma exchange significantly decreased the levels of proinflammatory and cell-injuring complement activation products. Our data indicate that the classical/lectin and alternative pathways may initiate the terminal pathway in TTP. In addition, the sustained presence of ADAMTS13 inhibitors in CR is linked to higher complement activation product levels C4d, C3bBbP and C3a, indicative of the ongoing activation of the classical and alternative pathways. These data, if confirmed in other cohorts, may form the rationale for application of specific therapeutics aimed at controlling complement activation in TTP.

Addendum

Study concept and design: M. Réti, P. Farkas and Z. Prohászka. Experimental procedures: D. Csuka and Z. Prohászka. Acquisition of data: M. Réti, P. Farkas, K. Rázsó, Á. Schlamadinger, M.L. Udvardy, K. Madách, G. Domján, C. Bereczki, G.S. Reusz and A.J. Szabó. Analysis and interpretation of data: Z. Prohászka, D. Csuka, M. Réti and P. Farkas. Critical writing of the manuscript: M. Réti, P. Farkas and Z. Prohászka. Critical revision of the manuscript for important intellectual content: M. Réti, P. Farkas, D. Csuka, K. Rázsó, Á. Schlamadinger, M.L. Udvardy, K. Madách, G. Domján, C. Bereczki, G.S. Reusz and A.J. Szabó. Obtaining funding: Z. Prohászka. Study supervision: M. Réti and Z. Prohászka.

Acknowledgements

The authors are grateful for the expert medical support from J. Demeter, K. Gadó and G. Radványi, and the for the excellent technical support from I. Szigeti, M. Kókai as well as for the expert medical support from members of the following departments: National Institute of Hematology, Blood Transfusion and Immunology (Department of Hematology, Department of Hemapheresis); National Medical Center (Department of Hematology and Stem-cell transplantation, Department of Anaesthesiology and Intensive Care); St István and St László Hospital of Budapest (Department of Hematology and Stem

cell transplantation, Department of Internal Medicine and Hematology, Department of Anaesthesiology and Intensive Care); National Blood Transfusion Service; Semmelweis University (Department of Anaesthesiology and Intensive Therapy, and Central Laboratory, Kútvoölgyi Clinical Center); and staff of the Haemobil Health Care Ltd Service. We are grateful to our patients for their participation in the study. The study was financially supported by a grant from the National Research Fund of Hungary (T100687 to ZP). We would like to acknowledge the critical reading of the manuscript and suggestions of G. Remuzzi and M. Noris with many thanks.

Disclosure of Conflict of Interests

The authors state that they have no conflict of interest.

References

- Sadler JE. von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2008; **112**: 11–8.
- Moake J. Thrombotic microangiopathies: multimers, metalloprotease, and beyond. *Clin Transl Sci* 2009; **2**: 366–73.
- Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1998; **339**: 1585–94.
- Lotta LA, Garagiola I, Palla R, Cairo A, Peyvandi F. ADAMTS13 mutations and polymorphisms in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hum Mutat* 2010; **31**: 11–9.
- Galbusera M, Noris M, Remuzzi G. Inherited thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2009; **94**: 166–70.
- Wright JF, Wang H, Hornstein A, Hogarth M, Mody M, Garvey MB, Blanchette V, Rock G, Freedman J. Characterization of platelet glycoproteins and platelet/endothelial cell antibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1999; **107**: 546–55.
- Ruiz-Torres MP, Casiraghi F, Galbusera M, Macconi D, Gastoldi S, Todeschini M, Porrati F, Belotti D, Pogliani EM, Noris M, Remuzzi G. Complement activation: the missing link between ADAMTS-13 deficiency and microvascular thrombosis of thrombotic microangiopathies. *Thromb Haemost* 2005; **93**: 443–52.
- Cat R, Rosario NA, de Messias IT, Resener TD, Kirschfink M. Evaluation of complement activation in premature newborn infants with hyaline membrane disease. *Eur J Pediatr* 1993; **152**: 205–8.
- Csuka D, Fust G, Farkas H, Varga L. Parameters of the classical complement pathway predict disease severity in hereditary angioedema. *Clin Immunol* 2011; **139**: 85–93.
- Gombos T, Makó V, Cervenak L, Papassotiropoulos J, Kunde J, Hársfalvi J, Föhrhéc Z, Pozsonyi Z, Borgulya G, Jánoskúti L, Prohászka Z. Levels of von Willebrand factor antigen and von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity predict clinical events in chronic heart failure. *Thromb Haemost* 2009; **102**: 573–80.
- Monsinjon T, Gasque P, Chan P, Ischenko A, Brady JJ, Fontaine MC. Regulation by complement C3a and C5a anaphylatoxins of cytokine production in human umbilical vein endothelial cells. *Faseb J* 2003; **17**: 1003–14.
- Tedesco F, Pausa M, Nardon E, Introna M, Mantovani A, Dobrina A. The cytolytically inactive terminal complement complex activates endothelial cells to express adhesion molecules and tissue factor procoagulant activity. *J Exp Med* 1997; **185**: 1619–27.
- Camous L, Roumenina L, Bigot S, Brachemi S, Frémeaux-Bacchi V, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. *Blood* 2011; **117**: 1340–9.
- Castellheim A, Pharo A, Fung M, Saugstad OD, Mollnes TE. Complement C5a is a key mediator of meconium-induced neutrophil activation. *Pediatr Res* 2005; **57**: 242–7.
- Sims PJ, Wiedmer T. The response of human platelets to activated components of the complement system. *Immunol Today* 1991; **12**: 338–42.
- Wiedmer T, Ando B, Sims PJ. Complement C5b-9-stimulated platelet secretion is associated with a Ca²⁺-initiated activation of cellular protein kinases. *J Biol Chem* 1987; **262**: 13674–81.
- Burns ER, Zucker-Franklin D. Pathologic effects of plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura on platelets and cultured vascular endothelial cells. *Blood* 1982; **60**: 1030–7.
- Wu XW, Li QZ, Lian EC. Plasma from a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura induces endothelial cell apoptosis and platelet aggregation. *Thromb Res* 1999; **93**: 79–87.
- Dang CT, Magid MS, Weksler B, Chadburn A, Laurence J. Enhanced endothelial cell apoptosis in splenic tissues of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1999; **93**: 1264–70.
- Mitra D, Jaffe EA, Weksler B, Hajjar KA, Soderland C, Laurence J. Thrombotic thrombocytopenic purpura and sporadic hemolytic-uremic syndrome plasmas induce apoptosis in restricted lineages of human microvascular endothelial cells. *Blood* 1997; **89**: 1224–34.
- Alvarez-Larran A, Petriz J, Martínez A, Sanz C, Pereira A. Plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura induces activation of human monocytes and polymorphonuclear neutrophils. *Br J Haematol* 2003; **120**: 129–34.
- Valant PA, Jy W, Horstman LL, Mao WW, Ahn YS. Thrombotic thrombocytopenic purpura plasma enhances platelet-leucocyte interaction in vitro. *Br J Haematol* 1998; **100**: 24–32.
- Zwart B, Ciurana C, Rensink I, Manoe R, Hack CE, Aarden LA. Complement activation by apoptotic cells occurs predominantly via IgM and is limited to late apoptotic (secondary necrotic) cells. *Autoimmunity* 2004; **37**: 95–102.
- Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR, Tijms O, Nieuwland R, Schwaebler WJ, Gingras AR, Mantovani A, Hack EC, Roos A. Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol* 2002; **32**: 1726–36.
- Ferrari S, Mudde GC, Rieger M, Veyradier A, Kremer Hovinga JA, Scheiflinger F. IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1703–10.
- Lucisano Valim YM, Lachmann PJ. The effect of antibody isotype and antigenic epitope density on the complement-fixing activity of immune complexes: a systematic study using chimaeric anti-NIP antibodies with human Fc regions. *Clin Exp Immunol* 1991; **84**: 1–8.
- Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, Mudde G, Wolf M, Coppo P, Girma JP, Azoulay E, Brun-Buisson C, Fakhouri F, Mira JP, Oksenhendler E, Poullin P, Rondeau E, Schleinitz N, Schlemmer B, Teboul JL, Vanhille P, Vernant JP, Meyer D, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood* 2007; **109**: 2815–22.
- Ferrari S, Knöbl P, Kolovratova V, Plaimauer B, Turecek PL, Varadi K, Rottensteiner H, Scheiflinger F. Inverse correlation of free and immune complex-sequestered anti-ADAMTS13 antibodies in a patient with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2011; **10**: 156–8.
- Noris M, Bucchioni S, Galbusera M, Donadelli R, Bresin E, Castelletti F, Caprioli J, Brioschi S, Scheiflinger F, Remuzzi G, International Registry of Recurrent and Familial HUS/TTP. Complement factor H mutation in familial thrombotic thrombocytopenic purpura with ADAMTS13 deficiency and renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 2005; **16**: 1177–83.

ORVOSI HETILAP

158. évfolyam, Szupplementum 2 – 2017



A MARKUSOVSKY LAJOS ALAPÍTVÁNY TUDOMÁNYOS FOLYÓIRATA

Emberi Erőforrások Minisztériuma – Egészségügyért Felelős Államtitkárság
EGÉSZSÉGÜGYI SZAKMAI KOLLÉGIUM

Egészségügyi szakmai irányelv – A thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolyticus uraemiás syndroma (HUS) kezeléséről

Típusa:	Klinikai egészségügyi szakmai irányelv
Azonosító:	002019
Megjelenés dátuma:	2017. január 24.
Érvényesség időtartama:	2017. február 1.–2019. december 31.
Kiadja:	Emberi Erőforrások Minisztériuma – Egészségügyért Felelős Államtitkárság
Megjelenés helye	
Nyomtatott verzió:	Egészségügyi Közlöny
Elektronikus elérhetőség:	https://kollegium.aeck.hu

Tartalomjegyzék

I. AZ IRÁNYELVFEJLESZTÉS BEN RÉSZT VEVŐK	4
II. ELŐSZÓ	4
III. HATÓKÖR	4
IV. MEGHATÁROZÁSOK	5
1. Fogalmak	5
2. Rövidítések	5
3. Bizonyítékok szintje	5
4. Ajánlások rangsorolása	5
V. BEVEZETÉS	6
1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása	6
2. Felhasználói célcsoport	6
3. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel	6
VII. AJÁNLTÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE	8
1. Bevezetés	8
2. Thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) vagy Moschcowitz-Syndroma	9
3. Haemolyticus uraemiás szindróma (HUS)	17
4. TTP és atípusos HUS a terhesség alatt	26
5. Szekunder TTP-HUS kórfarmák	27
VIII. JAVASLTATOK AZ AJÁNLTÁSOK ALKALMAZÁSÁHOZ	31
1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban	31
2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája	32
3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, auditkritériumok	32
VIII. AZ IRÁNYELV FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE	32
IX. IRODALOM	32
X. A FEJLESZTÉS MÓDSZERE	36
1. A fejlesztőcsoport megalakulása, a fejlesztési folyamat és a feladatok dokumentálásának módja	36
2. Az irodalomkeresés, szelekció	36
3. A felhasznált bizonyítékok erősségének, hiányosságainak leírása (kritikus értékelés, „bizonyíték vagy ajánlás mátrix”), bizonyítékok szintjének meghatározási módja	37
4. Az ajánlások kialakításának módszere	37
5. A véleményezés módszere	37
6. A független szakértői véleményezés módszere	37
XI. MELLÉKLET	38
1. Alkalmazást segítő dokumentumok	38
2. Alexion – aHUS beteg, ill. szülői információs füzet	42

I. AZ IRÁNYELVFEJLESZTÉSBEN RÉSZTVEVŐK

Társszerző Egészségügyi Szakmai Kollégiumi Tagozat(ok):

1. Transzfuziológia és hematológia

Dr. Réti Marienn, belgyógyász, hematológus, transzfuziológus szakorvos, a Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság elnökségi tagja, a Magyar Aferezis Társaság főtitkára, a Szakmai Kollégium Transzfuziológia és Hematológia Tagozat Tanácsának elnöke (2011–2015), társszerző

2. Nefrológia és dialízis

Prof. Dr. Reusz György, csecsemő- és gyermekgyógyász, nephrológus, a Magyar Nephrológiai Társaság elnöke, a Szakmai Kollégium Nephrológiai és Dialízis Tagozatának tagja, Tanácsának elnöke, társszerző

3. Klinikai immunológia és allergológia

Prof. Dr. Prohászka Zoltán, orvosi laboratóriumi vizsgálatok szakorvosa, a Magyar Immunológiai Társaság elnöke, a Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság tagja, a Szakmai Kollégium Klinikai Immunológia és Allergológia Tagozatának tagja (2013–2015), Tanácsának elnöke (2015), társszerző

Véleményező Egészségügyi Szakmai Kollégiumi Tagozat(ok):

1. Transzfuziológia és hematológia

Prof. Dr. Vályi-Nagy István, belgyógyász, klinikai immunológus-allergológus, hematológus, onkológus, az Egyesített Szent István és Szent László Kórház-Rendelőintézet főigazgatója, egyetemi magántanár, tagozatvezető, véleményező

2. Nefrológia és dialízis

Prof. Dr. Wittmann István, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrológiai Centrum klinikaigazgatója, egyetemi tanár, tagozatvezető, véleményező

3. Klinikai immunológia és allergológia

Prof. Dr. Nékám Kristóf, klinikai immunológus és allergológus, Budai Irgalmasrendi Kórház, Immunológiai és Allergológiai Szakrendelő, egyetemi tanár, tagozatvezető, véleményező

„Az egészségügyi szakmai irányelv készítése során a szerzői függetlenség nem sérült.”

„Az egészségügyi szakmai irányelvben foglaltakkal a fent felsorolt egészségügyi szakmai kollégiumi tagozatok vezetői dokumentáltan egyetértenek.”

Az irányelvfejlesztés egyéb szereplői
Betegszervezet(ek) tanácskozási joggal:

Egyéb szervezet(ek) tanácskozási joggal:

Szakmai társaság(ok) tanácskozási joggal:

Független szakértő(k):

II. ELŐSZÓ

A bizonyítékokon alapuló egészségügyi szakmai irányelvek az egészségügyi szakemberek és egyéb felhasználók döntéseit segítik meghatározott egészségügyi környezetben. A szisztematikus módszertannal kifejlesztett és alkalmazott egészségügyi szakmai irányelvek, tudományos vizsgálatok által igazoltan, javítják az ellátás minőségét. Az egészségügyi szakmai irányelvben megfogalmazott ajánlások sorozata az elérhető legmagasabb szintű tudományos eredmények, a klinikai tapasztalatok, az ellátottak szempontjai, valamint a magyar egészségügyi ellátórendszer sajátosságainak együttes figyelembevételével kerülnek kialakításra. Az irányelv szektorsemleges módon fogalmazza meg az ajánlásokat. Bár az egészségügyi szakmai irányelvek ajánlásai a legjobb gyakorlatot képviselik, amelyek az egészségügyi szakmai irányelv megjelenésekor a legfrissebb bizonyítékokon alapulnak, nem pótolhatják minden esetben az egészségügyi szakember döntését, ezért attól indokolt esetben dokumentáltan el lehet térni.

III. HATÓKÖR

Egészségügyi
kérdéskör:

thromboticus mikroangiopátiákban (thromboticus thrombocytopeniás purpura, haemolyticus uraemiás szindróma) szenvedő betegek ellátása

Ellátási folyamat
szakasza(i):

diagnosztika, terápia, rizikóbecslés, gondozás

Érintett ellátottak
köre:

minden thromboticus thrombocytopeniás purpurában és haemolyticus uraemiás szindrómában szenvedő beteg

Érintett ellátók köre

Szakterület: 0102 hematológia
0105 nefrológia

Egyéb specifikáció: Nincs

IV. MEGHATÁROZÁSOK

1. Fogalmak

Plasmapheresis/plazmacsere: Erre a célra kifejlesztett sejt- vagy plazmaszeparátorral történő olyan vértisztító eljárás (extrakorporális keringés), mely során a betegtől kb. 40–60 ml/kg plazmát távolítanak el és az indikációtól függő összetételű szubsztitúciós oldattal (krisztalloid, szintetikus kolloid, albumin, friss fagyasztott plazma) pótolnak. Az eljárás célja intravasculáris makromolekulák (nem dialyzálható) eltávolítása és esetenként valamilyen hiányzó plazmakomponens (pl. ADAMTS13 enzim, komplementregulátor fehérjék, stb.) nagy volumenű pótlása.

Plazmatranszfúzió: friss fagyasztott plazma beadása transzfúziós szereléken keresztül.

2. Rövidítések

AKI: akut vesekárosodás (acute kidney injury)

ADAMTS13: A desintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type I motif, member 13

aHUS: atípusos HUS

APA: anti-foszfolipid antitest

BF: komplement B faktor

DGKE: diacilglicerol kináz epszilon

FFP: friss fagyasztott plazma

HELLP: hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count

HF: komplement H faktor

HUS: haemolytic uraemic syndrome

IF: komplement I faktor

LPS: lipopolysaccharid

MAHA: Mikroangiopátiás hemolitikus anémia

MCP: membránokofaktor protein (CD46)

MMACHC: methylmalonic aciduria és homocysteinuria

PCR: polimeráz lánreakció

PEX: plasma exchange (plazmacsere)

SLE: szisztémás lupus erythematosus

SP-HUS: streptococcus pneumoniae – asszociált HUS

SSC: szisztémás sclerosis

TTP: thrombotic thrombocytopeniás purpura

ULVWF: ultranagy VWF

VTEC/STEC: Verotoxin/ Shiga-toxinproducing Escherichia coli

VWF: von Willebrand-faktor

3. Bizonyítékok szintje

A bizonyítékok szintjére használt besorolási rendszert a fejlesztőcsoport a GRADE nómenklátúra alapján dolgozta ki [<http://www.gradeworkinggroup.org/index.htm>].

A szövegben a fejlesztőcsoport a tudományos bizonyítékok osztályozására, azok hitelességének és tudományos alátámasztottságának besorolását a szöveges leírás után

tett zárójelben jelölte, pl.: (A). A következő szinteket használta a fejlesztőcsoport:

- **A evidencia (A)** szint: több randomizált, kontrollált vizsgálaton vagy tanulmányok metaanalízisén alapul. Nem valószínű, hogy további kutatási eredmények változtatni fognak a bizonyíték megbízhatóságán.
- **B evidencia (B)** szint: egy randomizált, kontrollált vizsgálaton vagy több nem randomizált egybeeső konklúziójú tanulmányon alapul. Valószínű, hogy további kutatási eredmények változtatni fognak a bizonyíték megbízhatóságán, a bizonyíték meg is változhat a jövőben.
- **C evidencia (C)** szint: csak olyan szakmai konszenzus támasztja alá, amely szakértők egybehangzó véleményén, esetbemutatókon vagy kisebb vizsgálatok eredményein alapul. Nagyon valószínű, hogy további kutatási eredmények változtatni fognak a bizonyíték megbízhatóságán, a bizonyíték meg is változhat a jövőben.
- **D evidencia (D)** szint: a hazai, szakmai konszenzuson alapuló szakértői vélemények rendszerbe illesztését szolgálja.

4. Ajánlások rangsorolása

Az ajánlások rangsorolására alkalmazott rendszert a fejlesztőcsoport a GRADE nómenklátúra alapján dolgozta ki [<http://www.gradeworkinggroup.org/index.htm>].

A szövegben a fejlesztőcsoport az ajánlások besorolását a szöveges leírás után tett zárójelben jelölte, pl.: (1) A következő szinteket használta a fejlesztőcsoport:

1. Erős (grade 1) Erős besorolású egy ajánlás, ha a klinikusok egyöntetűen meg vannak győződve arról, hogy az ajánlás alapján a beteg esetében realizálható előny meghaladja (vagy nem haladja meg) a várható rizikót vagy terhet. Az erős besorolású ajánlások általánosan, minden beteg esetén alkalmazhatók, és megalapozottan használhatók a következő fogalmak: „ajánlott” vagy „kell”.

2. Gyenge (grade 2) Gyenge besorolású egy ajánlás, ha a klinikusok véleménye szerint az előny és a rizikó/teher kiegyenlített, vagy bizonytalanság áll fenn az arány megítélésével kapcsolatban. Szintén gyenge besorolású egy ajánlás, ha a beteg vélekedése, preferenciája hatással lehet a klinikai döntésre. Gyenge besorolású ajánlások csak körültekintően alkalmazhatók a klinikai döntéshozatal során, és a következő fogalmak használata javasolt ezekkel kapcsolatban: „megfontolandó”, „javasolt” vagy „mérlegelendő”.

Amennyiben az adaptált irányelvek eltérő besorolási rendszert használtak, a hazai fejlesztőcsoport a BCSH irányelv [10] besorolási rendszerét vette át és az egyéb adaptált irányelvből származó ajánlásokat is ennek alapján sorolták be. Amennyiben az adaptált irányelvek egy-egy ajánlásra eltérő fokozatot állapítanak meg, a fejlesztőcsoport az alacsonyabb fokozatú ajánlásbesorolást alkalmazza.

V. BEVEZETÉS

1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása

A thromboticus microangiopathiák pathomechanizmusának megismerését célzó kutatások az elmúlt évtizedekben jelentős eredményt hoztak. A háttérben zajló molekuláris mechanizmusok keresése rutinyakorlattá vált. Ezek eredményének ismerete ma már elengedhetetlen a helyes kezelési stratégia megválasztásához. A TTP és a HUS egyaránt a thromboticus microangiopathiák közé sorolható, sok hasonlóságot mutató klinikai szindróma. Közös bennük a microvascularis thrombocytáaggregáció, lényegesen eltérő azonban ennek lokalizációja, kiterjedtsége és ennek megfelelően a klinikum.

A hazai egészségügyi ellátásban a korszerű, költséghatékony módszerek többsége rendelkezésre áll. Szükségesnek látszik azonban, hogy az ellátásra szorulóknak felkutatását és bizonyítékokon alapuló ellátását rendszerbe szedett egészségügyi szakmai irányelv segítse, figyelembe véve azt is, hogy a korábban, ebben a betegségi körben 2010-ben írt utolsó irányelv megjelenése óta számos, lényeges változás állt be a betegségcsoporttal kapcsolatban, így indokolttá vált egy teljesen új irányelv megírása.

2. Felhasználói célcsoport

Felhasználói célcsoport a hatókörben részletezett szakmák orvosainak napi gyakorlatához igyekeznek az irányelv a legújabb bizonyítékokra épülő ajánlásokat tenni.

További tágabb célcsoport, hogy az egészségügyi döntéshozók, ellátásszervezők részére áttekinthető irányvonalat biztosítson, amely a szolgáltatások tervezéséhez a legújabb bizonyítékokra épülő támpontot nyújt.

Az egészségügyi szakmai irányelv javasolható minden betegnek és azok hozzátartozóinak, betegképviselők és civil szervezetek számára, akik az irányelv elolvasásával összefoglaló szakmai tájékoztatást kapnak a hazai ellátás lépéseiről.

3. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel

Az egészségügyi szakmai irányelv előzménye:

Dr. Lehoczky Dezső (szerk.): Hematológiai betegségek korszerű kezelése. A Magyar Transzfuziológiai és Hematológiai Szakmai Kollégium és a Tudományos Társaság kezelési irányelvei. (Utolsó kiadás: Zafir Press-Mona-Lib Bt.-2011): Dr. Réti Marienn, Dr. Udvardy Miklós: A thrombotikus thrombocytopeniás purpura (TTP) és a haemolytikus uraemiás szindróma (HUS) kezelése.

Jelen fejlesztés a fenti irányelv átdolgozása, az elmúlt években megjelent nemzetközi irányelvekben írtak figyelembevételével.

Kapcsolat külföldi szakmai irányelv(ek)kel:

Jelen irányelv az alábbi külföldi irányelv(ek) ajánlásainak felhasználásával készült.

Szerző(k): Marie Scully, Beverley J. Hunt, Sylvia Benjamin, Ri Liesner, Peter Rose, Flora Peyvandi, Betty Cheung, Samuel J. Machin and on behalf of British Committee for Standards in Haematology

Tudományos szervezet: British Committee for Standard in Hematology

Cím: Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies [10]

Megjelenés adatai:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2012.09167.x/pdf>

Elérhetőség: British Journal of Haematology, 2012, 158(3), 323–335.

Szerző(k): Sarode R, Bandarenko N, Brecher ME, Kiss JE, Marques MB, Szczepiorkowski ZM, Winters JL.

Tudományos szervezet: American Society for Apheresis (ASFA)

Cím: Thrombotic thrombocytopenic purpura: 2012 American Society for Apheresis (ASFA) consensus conference on classification, diagnosis, management, and future research [19]

Megjelenés adatai:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jca.21302/pdf>

Elérhetőség: Journal of Clinical Apheresis, 2014, 29(3), 148–167.

Szerző(k): Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, Coppo R, Emma F, Johnson S, Karpman D, Landau D, Langman CB, Lapeyraque AL, Licht C, Nester C, Pecoraro C, Riedl M, van de Kar NC, Van de Walle J, Vivarelli M, Frémeaux-Bacchi V; for HUS International

Tudományos szervezet: HUS International

Cím: An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children [1]

Megjelenés adatai:

<http://www.ouhsc.edu/platelets/documents/C-tmaarticle.pdf>

Elérhetőség: *Pediatr Nephrol.*, 2016 Jan; 31(1), 15–39.

Szerző(k): Salvadori M, Bertoni E

Tudományos szervezet:

–

Cím: Update on hemolytic uremic syndrome: Diagnostic and therapeutic recommendations [15]

Megjelenés adatai:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3832913/pdf/WJN-2-56.pdf>

Elérhetőség: *World J Nephrol.*, 2013 Aug 6; 2(3), 56–76.

Szerző(k): Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, Grinyó JM, Macía M, Mendizábal S, Praga M, Román E, Torra R, Valdés F, Vilalta R, Rodríguez de Córdoba S.

Tudományos szervezet:

Cím: An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: Diagnosis and treatment. A consensus document [12]

Megjelenés adatai:

<http://digital.csic.es/bitstream/10261/80425/1/P1-E547-S3861-A11781-EN.pdf>

Elérhetőség: *Nefrologia*, 2013, 33(1), 27–45.

Szerző(k): Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. French Study Group for aHUS/C3G

Tudományos szervezet:

French Study Group for aHUS/C3G

Cím: Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies [83]

Megjelenés adatai:

<http://www.nature.com/nrneph/journal/v8/n11/pdf/nrneph.2012.214.pdf>

Elérhetőség: *Nat Rev Nephrol.*, 2012 Nov; 8(11), 643–657.

Szerző(k): Gema Ariceta, Nesrin Besbas, Sally Johnson, Diana Karpman, Daniel Landau, Christoph Licht, Chantal Loirat, Carmine Pecoraro, C. Mark Taylor, Nicole Van de Kar, Johan VandeWalle, Lothar B. Zimmerhackl – The European Paediatric Study Group for HUS

Tudományos szervezet:

The European Paediatric Study Group for HUS

Cím: Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome [13]

Megjelenés adatai:

<http://link.springer.com/article/10.1007/s00467-008-0964-1>

Elérhetőség: *Pediatr. Nephrol.*, 2009, 24, 687–696.

Szerző(k): Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, Goodship TH; working party from the Renal Association, the British Committee for Standards in Haematology and the British Transplantation Society

Tudományos szervezet:

Working party from the Renal Association, the British Committee for Standards in Haematology and the British Transplantation Society

Cím: Clinical Practice Guidelines for the management of atypical Haemolytic Uraemic Syndrome in the United Kingdom [14]

Megjelenés adatai:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2009.07916.x/epdf>

Elérhetőség: *British Journal of Haematology*, 2010, 148(1), 37–47.

Szerző(k): Johnson S, Stojanovic J, Ariceta G, Bitzan M, Besbas N, Frieling M, Karpman D, Landau D, Langman C, Licht C, Pecoraro C, Riedl M, Siomou E, van de Kar N, Walle JV, Loirat C, Taylor CM

Tudományos szervezet:

–

Cím: An audit analysis of a guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea negative (atypical) hemolytic uremic syndrome [84]

Megjelenés adatai:

<http://link.springer.com/article/10.1007/s00467-014-2817-4>

Elérhetőség: *Pediatr Nephrol.*, 2014 Oct; 29(10), 1967–1978.

Kapcsolat hazai egészségügyi szakmai irányelv(ek)kel
Jelen irányelv nem áll kapcsolatban más hazai egészségügyi szakmai irányelvvél.

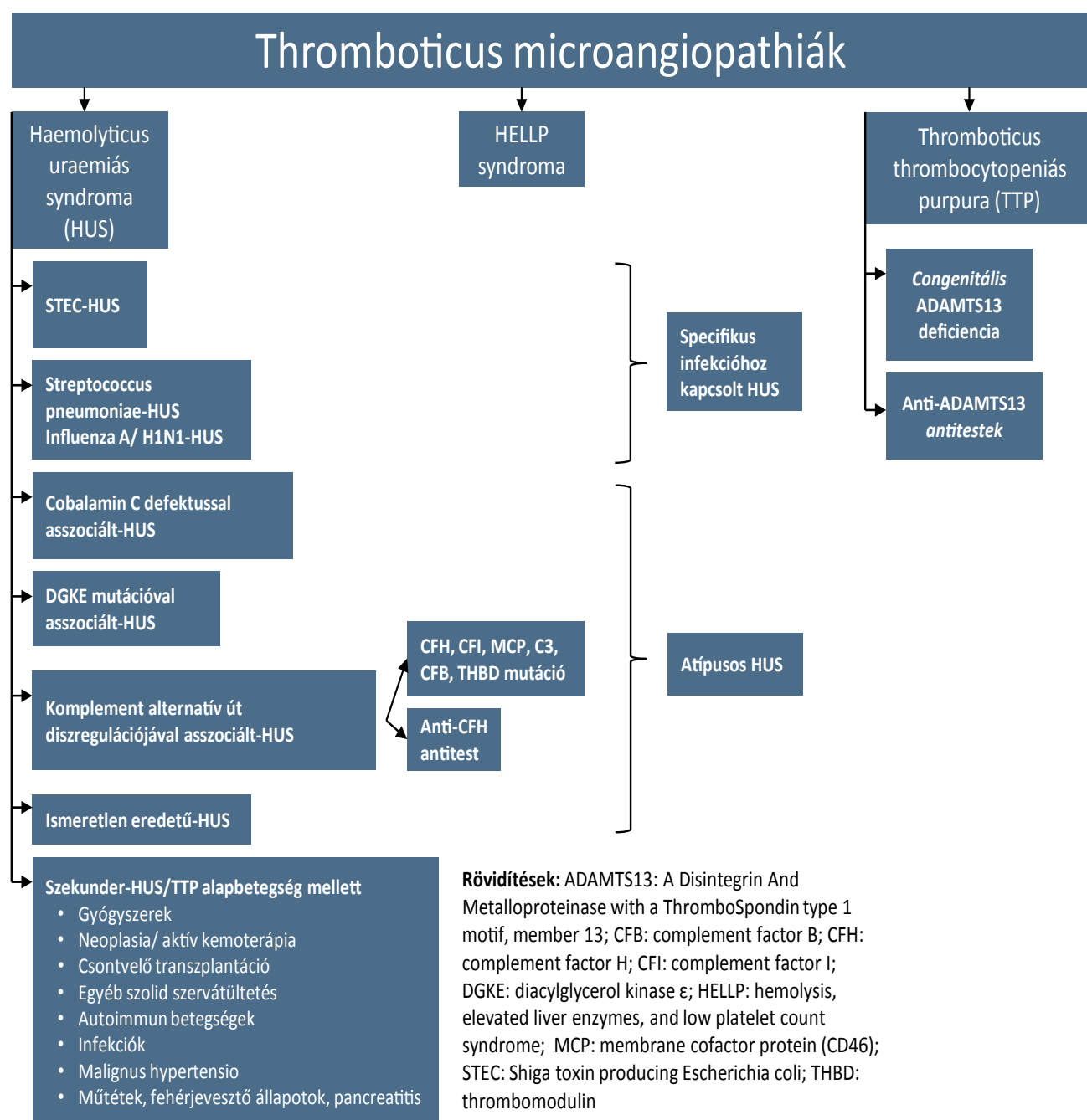
VI. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE

1. Bevezetés

A thromboticus microangiopathiák pathomechanizmusának megismerését célzó kutatások az elmúlt évtizedekben jelentős eredményt hoztak. A háttérben zajló molekuláris mechanizmusok keresése rutingyakorlattá vált.

Ezek eredményének ismerete ma már elengedhetetlen a helyes kezelési stratégia megválasztásához. A TTP és a HUS egyaránt a thromboticus microangiopathiák közé sorolható, sok hasonlóságot mutató klinikai syndroma. Közös bennük a microvascularis thrombocytáaggregáció, lényegesen eltérő azonban ennek lokalizációja, kiterjedtsége és ennek megfelelően a klinikum.

A thromboticus microangiopathiák felosztását az 1. ábra szemlélteti. Típusos életkor szerinti megjelenésük a 1. táblázatban látható.



1. ábra | A thromboticus microangiopathiák felosztása [1]

1. táblázat | TTP és HUS: ismert pathomechanizmusú kórképek életkori megjelenése [2]

Tipikus életkori kezdet	Valószínű diagnózis	Klinikum	A diagnózist igazoló tesztek
Újszülöttkortól a felnőtt korig Terhesség	Congenitalis TTP (Upshaw-Shulman sy) 'Late-onset' USS	súlyos sárgaság „burgundi” vizelet jelentősebb hematuria nélkül, hasonló tünetek vérkonoknál vagy testvéreknél, újszülöttkori halál magzati fejlődési elmaradás vagy magzati elhalás (42%), vagy klinikai TTP a 3. trimeszterben	ADAMTS13-aktivitás <10 % ADAMTS13-inhibitor hiánya ADAMTS13-génmutáció
Újszülöttkor – < 6 hónapos életkor	Methylmalonil aciduria-HUS (Cobalamin-C defektus)	táplálási nehézség, növekedési és fejlődési elmaradás, hypotonia	hyperhomocysteinaemia, hypomethionemia, methylmalonilaciduria, MMACHC-mutáció
Újszülöttkor - < 1–2 éves életkor	Diacylglycerol kinase epsilon-mutáció (DGKE)	hypertonia, hematuria, proteinuria, veseelégtelenség	DGKE-génmutáció
< 2 év	Pneumococcus-HUS (neuraminidase-HUS)	láz, invazív S. pneumoniae infekció: pneumonia, meningitis, septicaemia (empyema, subduralis tályog)	pozitív direkt Coombs, T antigén aktiváció, pozitív tenyésztés (vér, liquor), PCR
> 6 hónap – < 5 év	STEC-HUS (régebben D+HUS)	(véres) hasmenés az elmúlt 2 hétben STEC vagy Shigella dysenteriae endemiás területen	széklettenyésztés: MacConkey agar: 0157: H7, PCR: Shiga-toxin savó: anti-LPS-antitestek
Serdülőkortól a felnőtt korig	Autoimmun-TTP	hematológiai tünetek idegrendszeri tünetek ± változó mértékű veseérintettség láz	ADAMTS13-aktivitás <10 % ADAMTS13-inhibitor
Születéstől a felnőttkorig	Komplementmediált aHUS	hematológiai tünetek akut vesekárosodás tünetei atípiára utaló tünetek (7. táblázat)	komplement C3, C4 alternatív összkomplement HF, BF, IF, MCP expresszió anti-HF-antitest komplementgenetikai vizsgálat

HUS: haemolytikus uraemiás szindróma; TTP: thromboticus thrombocytopeniás purpura; ADAMTS13: A desintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13; MMACHC: methylmalonil aciduria és homocysteinuria; PCR: polimeráz láncreakció; STEC: Shiga-toxin producing Escherichia coli; LPS: lipopolysaccharid; HF: komplement H faktor; IF: komplement I faktor; BF: komplement B faktor; MCP: membrán kofaktor protein (CD46)

2. Thromboticus thrombocytopeniás purpura (TTP) vagy Moschcowitz-szindróma

2.1. Incidencia

Korábban 1/1 millióra becsülték [3], mely az utóbbi évtizedekben többszörösére emelkedett [4]. Ez csak részben köszönhető a kórkép jobb ismertségének, valamint a diagnosztikus kritériumok enyhülésének. A betegek kb. 2/3-a nő, a 30–40 éves korosztályt érinti leggyakrabban, de bármely életkorban előfordulhat.

2.2. A kórkép definíciója

A thromboticus thrombocytopeniás purpura a thromboticus microangiopathiák közé tartozó klinikai entitás. A kórképet Dr. Eli Moschcowitz írta le először 1924-ben. A jellegzetes klinikai *pentád* consumptiós thrombocytopenia, fragmentocytás haemolyticus anemia, fluktuáló

idegrendszeri tünetek, veseérintettség, és láz együtteséből áll. A pentád azonban csak az esetek 40%-ában, az első 3 tünet (*triád*) mintegy 70–80%-ában mutatható ki. *A diagnózis kimondásához elegendő a más okkal nem magyarázható thrombocytopenia, fragmentocytás haemolyticus anemia (diád) igazolása.* A patológiai történések alapját a kiserekben zajló, kontrollálatlan thrombocytá-aggregáció, disszeminált microthrombus (thrombocytát és von Willebrand-faktort tartalmaznak) képződés adja. Mortalitása jelenleg kb. 5–20%, mely a 70-es évek előtt meghaladta a 90%-ot. Szerzett idiopathiás, congenitális/familiáris, valamint másodlagos formái ismertek. A klinikai lefolyás lehet egyepizódos vagy relabáló. A hasonló klinikai és laboratóriumi tünetek miatt – főleg a felnőttirodalomban – a HUS-tól korábban nem különítették el, hanem TTP/HUS vagy HUS/TTP néven nevezték a kórképet. Ma azonban már törekednünk kell a pontos diagnózisra, mivel nemcsak a pathomechanizmus, de a terápia is eltérő.

2.3. Pathomechanizmus

Az ADAMTS13 (a distintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1-like domains, member 13) metalloproteáz enzim aktivitásának jelentős csökkenését észlelték a betegek zöménél [5, 6].

Az enzim élettani szerepe a von Willebrand-faktor (VWF) lebontása; a Tyr1605 és Met1606 közötti peptidkötést hasítja. Hiányában az endothelből származó VWF hasítása nem következik be, ún. ultranagy VWF (ULVWF) multimerek kerülnek a keringésbe. Ezek adhesivitása a normális multimerekénél jóval nagyobb; nyíróerő hatására a trombocyták direkt aggregációját indítják el a kiserekben. Az enzimaktivitás csökkenését inhibitoroként viselkedő IgG izotípusú autoantitést vagy az enzimműködés genetikusan meghatározott hibája egyaránt okozhatja. Más esetekben az enzim relatív – konzumpció révén bekövetkező – hiányáról lehet szó. TTP-re a 10% alatti, elégtelen enzimaktivitás jellemző; enyhébb csökkenés számos kórképben kimutatható. Ritkán, a TTP egyes eseteiben semmilyen ADAMTS13-eltérést nem lehet kimutatni, ennek a formának a pathomechanizmusa még nem tisztázott. A feltételezett egyéb mechanizmusok közül megemlítendő az anti-CD36-autoantitést, mely több munkacsoport szerint [7] a betegek 70–80%-ban kimutatható. Pontos jelentősége még ma sem tisztázott.

Az ADAMTS13 enzimet döntően a máj termeli; génje a 9-es kromoszómán helyezkedik el, a q34-es locusban. Az enzim *in vitro* felezési ideje kb. 1 hét, *in vivo* mindössze 2–4 nap. Ugyanakkor genetikai enzimhiányban, az enzim pótlása FFP-transzfúzióval jóval hosszabb, 3–4 hetes tünetmentes állapotot eredményez. Az ellentmondás hátterében az enzim endothelhez kötődését feltételezik, ez mintegy reservoirként szolgálna. Előzetes adatok szerint, ebben talán a CD36-receptornak [8] lenne szerepe. Fontos megjegyezni, hogy az ADAMTS13-enzim-aktivitás hiánya önmagában nem okoz TTP-t, csak a betegség kialakulásának kockázatát növeli. A folyamat elindításához diffúz endothelaktiváció vagy egyéb indítómechanizmus is szükséges. A leggyakoribb klinikai „triggererek” a (légúti, húgyúti, gastrointestinális) fertőzések, a terhesség és a műtétek.

Az esetek kis százalékában az ADAMTS13 aktivitás normális, vagy alig csökkent, ezek pontos pathomechanizmusa még nem tisztázott. A klinikai és a laboratóriumi tünetek is jelentős átfedést mutathatnak az atípusos haemolytikus uraemiás szindrómával, ill. a szekunder thromboticus microangiopathiákkal. Fontos a pathomechanizmus mielőbbi tisztázása, mert a terápia ma már eltérő. Ehhez elengedhetetlen a családra is kiterjedő, részletes anamnesis felvétele, a társbetegségek és triggererek kutatása, továbbá a kezelés megindítása előtti vérmintavétel (a molekuláris mechanizmus tisztázásához, ld. később).

2.4. Klinikai tünetek

A TTP klinikuma nagyon színes, a microthrombosisok okozta ischaemia lokalizációjától függően sokféle kórképet utánozhat. A betegség általában viszonylag hirtelen kezdődik, típusos prodromális fázis nélkül.

Hematológiai tünetek

- Thrombocytopenia okozta tünetek: még súlyos thrombocytopenia esetén is ritka a súlyos vérzés: leggyakrabban a bőrön és a nyálkahártyákon látható purpura, petechia; a gastrointestinális, nőgyógyászati, szemfenéki vagy egyéb vérzés ritkaság. Előfordul, hogy az alacsony trombocytaszám ellenére semmilyen vérzéses tünet sem észlelhető.
- Az intravasculáris hemolysis tünetei: icterus nincs vagy csak enyhe, a vizelet burgundi barna. Ehhez a változó mértékű anémia tünetei társulhatnak. A kórkép ritkán indulhat ITP-hez hasonlóan, ilyenkor az anaemia és esetleg a fragmentocytosis is csak napokkal később jelenik meg.

Neurológiai tünetek

Az esetek 70–80%-ban észlelhetők. Gyakori és jellegzetes a heves fejfájás (bevezető tünetként is előfordul) és a fluktuáló tudatzavar, gyakran észlelhető aphasia, góctünetek és görcsök is előfordulhatnak. A tünetek gyakran „mozognak”, és sokszor nem köthetők egy góchoz, de ritkán típusos stroke is lehetséges.

Gastrointestinalis tünetek

Az epigastriális fájdalom, hányinger, hányás gyakori tünet, a hasmenés ritka. A pancreatitis kiváltó okként és szövődményként egyaránt előfordul.

Vesetünetek

A kóros vizeletlelet (proteinuria, mikroszkópos haematuria, haemoglobinuria) nagyon gyakori, de a vizeleteltérés hiányozhat vagy akut tubuláris nekrozist utánozhat. A francia munkacsoport adatai alapján az ADAMTS13 deficiens betegek döntő többségének az induló kreatinin értéke <200 mikromol/L [9]. Az akut vesekárosodás (AKI) pontos megítélését ld. a 6. táblázatban, az AKI mértékére és dinamikájára a kreatininemelkedés, illetve a diuresis alakulása adhat támpontot. Ritka az AKI 3. stádium (failure) bekövetkezése.

Cardiovascularis tünetek

Szívélgtelenség, ritmuszavar, akut myocardialis infarctus, hypertonia bár nem gyakoriak, előfordulhatnak.

Láz

A pentád része, nem fertőzőes eredetű. Láz esetén az esetleges fertőzést azonban mindig fel kell kutatni és kezelni kell, mert szerepe lehet a kórkép kiváltásában és fenntartásában is.

Egyéb tünetek

A TTP az egész szervezetre kiterjedő folyamat, ezért bármely szerv érintett lehet, a máj (elsődlegesen a máj termeli az ADAMTS13 enzimet) és a tüdő azonban többnyire megkímélt. Az esetek egy részében kialakuló kóma miatt a betegek több mint 10%-a szorul gépi lélegeztetésre.

A TTP kórismézése nem mindig egyszerű. Egyes esetekben a tünetek sokszínűsége, máskor éppen ellenkezőleg, a tünetegek megjelenés, ITP-re, Evans-szindrómára (ITP és autoimmun hemolitikus anémia) emlékeztető klinikai kép lehet félrevezető. Ischaemiás tünetek (stroke, myocardialis infarctus, „akut has” stb.) nemcsak megelőzhetik a jellegzetes hematológiai eltéréseket, de uralhatják is a klinikai képet.

2.5. Diagnózis

A TTP klinikai diagnózisának megállapításához és a terápia megkezdéséhez mindmáig elegendő a *más okkal nem magyarázható thrombocytopenia és a microangiopathiás haemolyticus anaemia (diád)* igazolása. A kórismzéshez és a kezelés azonnali megkezdéséhez szükséges laboratóriumi vizsgálatokat az 2. táblázat, a differenciáldiagnózishoz és az optimális terápia kiválasztásához szükséges vizsgálatokat a 3. táblázat, a legfontosabb elkülönítendő kórképeket pedig a 4. táblázat tartalmazza.

Ajánlás 1

A kezelés elindításához szükséges klinikai diagnózishoz az anamnesisen, a klinikai tüneteken, a fizikális vizsgálaton és a 2. táblázatban feltüntetett rutin laborvizsgálatok eredményein kell alapulnia (1A) [10].

Ajánlás 2

A kóreredetet tisztázandó, a 3. táblázatban felsorolt vizsgálatokhoz a vérmintákat az 1. plazmacsere vagy plazmatranszfúzió előtt kell levenni (ld. <http://semmelweis.hu/kutlab/betegellatas/122-29608/>) és szükség esetén megfelelő körülmények között tárolni, a laboratóriumba küldeni vagy – a beteg áthelyezése esetén – a beteggel együtt továbbküldeni (1B) [10].

Ajánlás 3

Minden, klinikailag TTP-nek tartott esetben el kell végezni – legalább az első plazmacsere/plazmatranszfúzió előtti vérmintából – az ADAMTS13 aktivitás és inhibitor meghatározást (1B) [10].

2. táblázat | A thromboticus microangiopathiák (TTP és HUS) megállapításához és az azonnali kezelés megkezdéséhez szükséges, sürgősséggel elvégzendő vizsgálatok [10]

A diagnózishoz szükséges	Jellemző érték
direkt Coombs-teszt	negatív
teljes vérkép	thrombocytopenia (TTP < 50 G/l; HUS < 150 G/l), anaemia, reticulocytosis
perifériás kenet	fragmentocytosis ± magvas vörösvérsejtek, spherocyták, polychromasia basophil pettyezettség
se-haptoglobin	alacsony/mérhetően alacsony
se-indirekt bilirubin	normális/enyhén kóros/ritkán emelkedett
LDH	magas (leggyakrabban 1000–5000 IU/l)
transzaminázok	normális/enyhén kóros
szűrő coagulogram (PT, APTI, fibrinogén)	normális/enyhén kóros
kreatininemelkedés	TTP: gyakran mérsékelt, kreatinin 200 mikromol/L alatt marad HUS: gyakran jelentős, az akut vesekárosodás mértékének pontos megítélését ld. a 6. táblázatban
troponin	normális/változó mértékű emelkedés
CRP	normális/enyhén kóros
procalcitonin	normális/enyhén kóros (veselégtelenség: magas)
teljes vizelet	változó mértékű hemoglobinuria, proteinuria, (micro)haematuria

2.6. Klinikai kórformák

2.6.1. Congenitális/familiáris

TTP-Upsaw–Schulman-syndroma (USS) [17]

Háttérben az ADAMTS13 enzim homozygota vagy dupla heterozygota génmutációja áll (eddig kb. 130 mutációt írtak le); az öröklésmenet autoszóm recesszív. Korábban nagyon ritkának vélték ezt a kórformát, azonban újabb francia adatok alapján, halmozott előfordulását észlelték a terhesség során [18].

Ajánlás 4

Újszülöttkorban jelentkező, súlyos sárgaság esetén USS-re is gondolni kell. Előfordul, hogy a klinikai megjelenés gyermek-, vagy akár felnőttkorra toódik (1A) [10].

Ajánlás 5

Gyermek- vagy felnőttkorban jelentkező, tisztázatlan eredetű thrombocytopenia esetén USS-re is gondolni kell (1B) [10].

3. táblázat | A thromboticus microangiopathiák (TTP és HUS) differenciáldiagnózisához és a célzott terápia kiválasztásához szükséges vizsgálatok [1, 10–16]

A differenciáldiagnózishoz és a terápia megválasztásához szükséges vizsgálatok	Megjegyzés
terhességi teszt	szülőképes korú nők esetében
szemészet, fundusvizsgálat	malignus hypertonia gyanújakor
vesebiopszia, ha kivitelezhető, szövettani vizsgálat	a TMA végleges diagnózisának alátámasztásához, a vesekárosodás reverzibilitásának megítéléséhez
virológia (HIV, hepatitis A/B/C ± CMV, EBV, VZV, Parvo B19)	a terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és elküldeni a laboratóriumba
szűrővizsgálat autoimmun betegség irányában (RF, ANA, dsDNA, ENA szűrés, C3, C4, lupus antikoaguláns, antifoszfolipid-antitestek, akut vesekárosodás esetén: ANCA, anti-GBM is)	a terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és elküldeni a laboratóriumba
ADAMTS13-aktivitás, antigén, inhibitor, genetika	a terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és a szaklaboratórium előírása szerint tárolni vagy elküldeni a laboratóriumba
komplement-szűrővizsgálat + komplementgenetika + áramlási cytometria (CD46)	a terápia megkezdése előtt <u>kell</u> a vérmintát levenni és a szaklaboratórium előírása szerint tárolni vagy elküldeni a laboratóriumba
széklettenyésztés + verotoxin PCR	hasmenés a kórkép jelentkezésekor vagy az azt közvetlenül megelőző 1–2 hétben
kobalamin-anyagcsere vizsgálata (plazmahomocisztein, plazma + vizelet metilmalonsav, B ₁₂ -vitamin-szint, genetika)	gyermeknekél mindig, fiatal felnőtteknél hyperhomocysteinaemia esetén javasolt elvégzése

4. táblázat | A TTP és HUS differenciáldiagnózisa során ki-zárandó legfontosabb kórképek [1, 10–16]

Immuntrombocytopenia
Autoimmun haemolyticus anaemia
Evans-szindróma (autoimmun haemolyticus anaemia és thrombocytopenia)
Disszeminált intravasculáris coagulatio
(Pre)eclampsia, HELLP szindróma
Kobalamin C-hiány (gyermek, fiatal felnőtt), B ₁₂ -vitamin-hiány (felnőtt)
Szekunder thromboticus microangiopathiák (ld. 10. táblázat)
Thrombocytopenia és/vagy haemolysis egyéb okai

A legsúlyosabb esetek újszülöttkorban kezdődnek; jellegzetes klinikai megjelenési formái a súlyos újszülöttkori sárgaság és a congenitális thrombocytopenia. Króni-

kus, ciklikus, visszaesésekkel tarkított kórlefordulású TTP-ként zajlik. Jellegzetes periodicitást mutat, a „shubok” általában 3–4 hetente jelentkeznek. Ismertek mono-, oligosymptomás formák is. A gyermekkori tünetek enyhék, ITP-re vagy atipusos (Coombs-negatív) Evans-szindrómára emlékeztethetnek, a jellegzetes klinikum csak fiatal felnőtt korban bontakozik ki, fertőzés, terhesség, alkoholabúzus, stressz stb. hatására. Ritkán az első epizód jelentkezésének időpontja akár 50 éves korig is kitolódhat [10].

Ajánlás 6

Az USS diagnózisa a 10% alatti ADAMTS13 enzimaktivitás, az inhibitor konzekvens hiánya alapján állítható fel. Az ADAMTS13 gén homozigota vagy compound heterozigota mutációjának igazolásával a diagnózis megerősíthető (1A) [10].

Ajánlás 7

Az USS elsőfokú vérrokonainál tünetmentesség esetén is gondolni kell a kórkép lehetőségére – ADAMTS13-szűrővizsgálat ajánlott, különösen terhesség esetén (1D) [10, 18].

Egyes mutációk esetében a felnőttkori vagy kifejezetten terhesség alatti megjelenés a jellemző [18]. Ezeket el kell különíteni az idiopathiás kórformától, a nem normalizálódó, deficiens (<10%) ADAMTS13-aktivitás, az enzim elleni antitest/inhibitor konzekvens hiánya és a tünetmentes időszakokban a keringésben kimutatható ULVWF-multimerok alapján. A genetikai vizsgálat megerősítheti a diagnózist. Az elsőfokú vérrokonok szűrővizsgálata klinikai tünetek hiányában is javasolt.

2.6.2. Idiopathiás (szerzett) TTP

A familiáris formánál jóval gyakoribb, leggyakrabban autoimmun mechanizmuson alapul, ADAMTS13-enzimhiány alakul ki gátló autoantitestek jelenléte miatt. Ezért ma már autoimmun TTP-nek is hívják. Akut (egyepizódos) vagy krónikus relabáló (intermittáló) formák ismertek. Utóbbiban a shubok rendszertelenül követik egymást.

A klinikailag idiopathiásnak tartott TTP-s betegcsoporton belül ellentmondóak a hiányzó ADAMTS13 aktivitás gyakoriságára vonatkozó adatok. Számos tanulmány szerint az idiopathiás TTP-s betegek közel 100%-a tartozik ebbe a csoportba, a kórkép kezdetekor kb. 90%-uknál, a későbbiekben még magasabb arányban mutatható ki inhibitor a keringésükben [19]. Ezzel szemben, egyes tanulmányokban számottevő a nem-ADAMTS13-hiányos betegek aránya – ráadásul, ezek a betegek is reagálnak a plazmacserére [20, 21]. Ez utóbbi betegcsoportra a plazmacserére adott rosszabb válasz, magasabb mortalitás, de alacsony relapszus ráta jellemző [22]. Egyelőre nem eldöntött, hogy ez utóbbi betegcsoport az idiopathiás TTP ismeretlen (nem-ADAMTS13) mechanizmusú alcsoportját képezné, vagy – a jelenleg

még nem tisztázott pathomechanizmus alapján – inkább az aHUS vagy secunder TMA körébe lennének sorolhatók [11, 23]. A kérdés eldöntése azért egyre fontosabb, mert a célzott terápiák a molekuláris mechanizmus szerint választandók. *Útmutatóként szolgálhat* a francia munkacsoport megfigyelése alapján a következő egyszerű szabály az ADAMTS13-hiányos TTP és a TMA egyéb formáinak elkülönítéséhez: ha a beteg kezdeti kreatininértéke <200 $\mu\text{mol/L}$, és thrombocytaszáma <30 G/L, és az antinukleáris antitest vizsgálat pozitív, akkor mindhárom eltérés együttes előfordulása 98% specificitással azonosítja az ADAMTS13-hiányt [9].

2.6.3. Másodlagos (secunder) TTP

Részletesen a sekunder HUS-sal együtt, a későbbiekben tárgyaljuk (10. táblázat).

2.7. Terápia

ADAMTS13-deficienciával kapcsolt TTP-ben a terápia célja az enzimaktivitás pótlása, helyreállítása. Genetikailag determinált hiány esetén substitúciós terápia, ADAMTS13-ellenes ellenanyag jelenléte esetén az inhibitor eltávolító és az enzimműködést pótló plazmacsere, valamint az inhibitor újratermelődését gátló immunosuppresszív terápia indokolt.

2.7.1. A congenitális/familiáris TTP kezelése [10, 17, 19]

Ajánlás 8

A kezelésre plazmaterápia (plazmatranszfúzió vagy ritkán plazmacsere) vagy ADAMTS13-aktivitással rendelkező VIII. faktor készítmény egyaránt használható. A dózist és a kezelési frekvenciát úgy kell beállítani, hogy a beteg thrombocytaszáma stabilan 150 G/l felett maradjon (1B) [10, 17, 19].

Ajánlás 9

Az USS kezelése és gondozása a TTP kezelésében tapasztalt onkohematológiai (gyermek) vagy hematológiai (felnőtt) központban kell történnjen (1A) [10].

A kezelés történhet FFP-vel vagy vírusinaktivált gyári plazmakészítménnyel (Octaplas, Octapharma). Az alkalmankénti dózis 10–15 ml/kg, általában 2–3 hetenként. Az adagolás gyakoriságát egyénileg kell beállítani, úgy, hogy a thrombocytaszám 150 G/l feletti tartományban maradjon. Plazmacsere általában felesleges. Mivel nincs inhibitor, immunosuppresszív kezelésre sincs szükség. Tünetmentes állapotban általában nem indokolt a profilaktikus plazmaterápia, kivéve a terhességet, ahol a plazmaprofilaxis javítja az anya és a magzat életkilátásait [18]

Plazma intolerancia esetén alternatív kezelésként alkalmazható ADAMTS13-aktivitást tartalmazó, ún. in-

termedier tisztaságú VIII. faktor (pl. BPL 8Y, 15–30 U/kg) [24] is, vagy újabban nagy tisztaságú VIII. faktor készítmény is (pl. Koate, Talecris) [25]. Ezek előnye a vírusbiztonság mellett a kis térfogat, vagyis a folyadékterhelés hiánya.

2.7.2. Az idiopathiás TTP kezelése [10, 11, 19]

Ajánlás 10

A TTP sürgősségi kezelést igényel (1A) [10].

Ajánlás 11

TTP alapos gyanúja esetén a felnőtt beteget a területileg illetékes, apheresisközponttal és hematológiai osztállyal rendelkező kórházba kell áthelyezni. Ha ez bármely okból nem sikerül, akkor telefonon kell felvenni a kapcsolatot a hematológiai osztállyal, és a beteg kezeléséről az áthelyezésig naponta kell konzultálni (1D).

TTP alapos gyanúja esetén a beteget a lehető legrövidebb időn belül 24 órás apheresisszolgálattal rendelkező hematológiai központba kell küldeni; ha a beteg nem szállítható, akkor mobil PEX-et kell kérni. Ebben az esetben azonban naponta telefonos konzílium szükséges a területileg illetékes hematológiai centrummal.

2.7.2.1. Elsődleges terápia

Ajánlás 12

A plazmacserét 4–8 órán belül meg kell kezdeni (1B) [10]. Ha ez bármely okból nem sikerül, plazmatranszfúziót kell adni (1D) [26, 27].

Ajánlás 13

A plazmacserét az 5. táblázatban foglaltak szerint kell végezni (1B) [10].

Ajánlás 14

Kritikus állapot esetén, vagy amennyiben a beteg állapota a megkezdett terápia ellenére romlik (pl. gépi lélegeztetés válik szükségessé, új neurológiai, cardiális tünet jelenik meg, stb.) javasolt a plazma terápia intenzitását (a plazmacsere volumenét és/vagy a plazmacsere gyakoriságát) növelni (2B) [10, 28, 29] vagy a plazmacserék között FFP-transzfúziót javasolt adni (1D).

A beteg kezelését lehetőség szerint azonnal, de legkésőbb 4–8 órán belül [10] meg kell kezdeni. Az anamnesztikus adatok, a klinikai tünetek, a standard fizikális vizsgálati lelet, és a 2. táblázatban jelzett laborvizsgálatok eredménye alapján felállított klinikai diagnózis vagy annak alapos gyanúja elegendő a terápia elindításához. A kontrollált adatok [26, 27] alapján továbbra is elsődlegesen választandó kezelés a plazmacsere (PEX), jellemzőit az 5. táblázatban foglaltuk össze.

A plazmacseréhez centrifugális elven működő készüléket ajánlott [10] használni, ugyanakkor a gyermekdialízis-állomásokon filtrációs készülékekkel nemzetközileg

is kedvező tapasztalatokról számolnak be [30]. A kezelést 1,5 plazmavolumen/nap intenzitással kell kezdeni, ez 1 plazmavolumen/nap-ra csökkenthető az állapot stabilizálódásakor. Amennyiben a beteg állapota a megkezdett terápia ellenére romlik (pl. gépi lélegeztetés válik szükségessé, új neurológiai vagy cardiális tünet jelenik meg, stb.), a PEX sűrűbben, naponta kétszer ismételtető [10, 28, 29] (ezt jelenleg az OEP nem finanszírozza), vagy a PEX-ek között nagyon lassan adott, közel folyamatos FFP-infúzió (10–15 ml/kg) adható, ha a beteg keringése ezt elviseli. Utóbbival a Szent László Kórházban kedvező tapasztalatokat szereztünk.

A szubsztitúciós folyadék hazai körülmények között jelenleg FFP vagy kryofelülűszo (ha hozzáférhető), de a nemzetközi guideline-oknak [10, 12, 13] és gyakorlatnak megfelelően kívánatos lenne vírusinaktivált plazma alkalmazása a rendkívül nagy donorexpozíció miatt. A vírusinaktiválás többféle módon végezhető, pl. solvens-detergens (SD), metilénkék-UVA, amotosalen-UVA, ill. riboflavin-UV kezeléssel. Az SD plazmaprotein S- és alpha 2-antiplasmin tartalma alacsonyabb, ennek ellenére klinikai vizsgálatban az FFP-vel egyenértékűnek bizonyult [31]. Hasonlóan jól szerepelt az amotosalen-UVA-FFP is [32], míg a metilénkék-UVA-FFP hatékonysága szerényebb volt [33]. A riboflavin-UV-FFP alkalmazásáról TTP-ben még nincs adat. A plazmacsere első felében az FFP helyett 5%-os albumin is adható [34], de a szubsztitúciós folyadék legalább 50%-a FFP kell legyen.

Ajánlás 15

A plazmacserét a hematológiai remisszió eléréséig (egymást követő min. 2 napon thrombocytaszám >150 G/l, hemolysisre utaló jel nincs, emelkedő vagy normális hemoglobinszint) naponta kell ismétetni (1A) [10].

Ajánlás 16

A hematológiai remisszió elérésekor nem ajánlott a plazmacsere gyakoriságának fokozatos csökkentése (tapering) (2B) [10, 34].

Ajánlás 17

A hematológiai remisszió elérését követő legalább 1 hónapig szoros obszerváció szükséges. Folyamatosan romló vagy kórossá váló thrombocytaszám esetén a plazmacsere folytatása javasolt az állapot stabilizálódásáig, ill. a hematológiai remisszió eléréséig (1B) [10]. Az ellenőrzés gyakoriságát egyénileg kell meghatározni (1D).

A thrombocytaszám normalizálódásakor a nem javuló anaemia, reticulocytosis a hemoglobin emelkedése nélkül, továbbra is alacsony haptoglobinszint és elégtelen ADAMTS13-aktivitás, akár a normál tartományon belül újra csökkenni kezdő thrombocytaszám a kórfolyamat tüneteket nem okozó aktivitását jelezheti, ezért a beteg fokozott obszervációt igényel. Hematológiai remisszió (2 egymást követő napon thrombocytaszám >150 G/l

és emelkedő vagy normális hemoglobinszint) elérésekor fennálló neurológiai vagy renális maradványtünetek a kezelés folytatását általában nem indokolják. A hematológiai remisszió elérésekor a PEX frekvenciájának fokozatos csökkentése (a hirtelen elhagyás helyett) nem csökkenti a relapszus kockázatát [34].

A PEX önmagában nem csökkenti, inkább fokozza az ADAMTS13-ellenes ellenanyag képződést, ezért tartós remisszió csak az immunszuppresszív kezelés együttes alkalmazásától várható (ld később).

Romló leletek esetén (exacerbatio a kezelés felfüggesztése, abbahagyását követő 30 napon belül) a kezelés újraindítandó, mígnem az állapot stabilizálódik. A tartós remisszió eléréséhez olykor több hónapos kezelésre is szükség lehet. Alapszabály, hogy amennyiben a TTP nem vagy nem jól reagál a kezelésre, a kórkepet fenntartó egyéb okot (infekció, tumor, autoimmun betegség) kell keresni.

5. táblázat | A plazmacsere gyakorlata TTP-ben [10]

<ul style="list-style-type: none"> • Volumen: 1,5 plazmavolumen/nap (kezdetben) 1,0 plazmavolumen/nap (az állapot stabilizálódását követően)
<ul style="list-style-type: none"> • Szubsztitúciós folyadék: FFP (>50%)
<ul style="list-style-type: none"> • Frekvencia: naponta
<ul style="list-style-type: none"> • Végpont: hematológiai remisszió*

* Min. 2 egymást követő napon > 150 G/l-nél magasabb thrombocytaszám, haemolysis jele nélkül, emelkedő vagy normális hemoglobinszint mellett.

Késői relapszus (30 nap fenntartott hematológiai remissziót, vagyis inaktív betegséget követően) a betegek kb. 20–50%-nál észlelhető [10]; gyakran terhesség, műtét, infekció váltja ki, és kezelésre az első epizódhoz hasonlóan, általában jól reagál. A késői relapszus időpontja kiszámíthatatlan. Saját (Szent László Kórház) beteganyagunkban a leghosszabb, két epizód közötti tünetmentes időszak 24 év(!) volt.

2.7.2.2. Alternatív plazmaterápia

Amennyiben plazmacsere 4–8 órán belül nem elérhető, FFP-infúzió adandó: szokásos napi dózisa 20–30 ml/kg. Törekedni kell azonban a plazmacsere, mivel kontrollált adatok alapján a plazmainfúziós terápia hatékonysága szignifikánsan rosszabb. A 3. táblázatban jelzett specifikus vizsgálatokhoz a vért az első FFP bekötése előtt kell levenni és a szaklaboratórium utasításának megfelelően tárolni vagy továbbítani.

2.7.2.3. Immunszuppresszív kezelés (ISU) [10]

Az autoimmun (ADAMTS13-inhibitor) mechanizmusú TTP-ben az immunszuppresszív terápia alkalmazása széles körben elfogadott. Az alábbi szerek használatáról van irodalmi adat:

Ajánlás 18

A kórkép jelentkezésekor észlelt 30 G/l alatti thrombocytaszám és akut vesefunkció-beszűkülés hiánya (a kezdeti szérumkreatinin szint 200 $\mu\text{mol/l}$ alatti értéket mutat, a vesekárosodás pontos megítélésével kapcsolatban ld. 6. táblázat is) esetén, a plazmacsere mellett szteroidterápia indítandó lökéskezelésként (felnőtteknél 1 g/nap 3 napon át) vagy standard dózis (1 mg/kg/nap) adásával (1B) [9, 10, 35–37].

Kortikoszteroidok [35–37]

Leggyakrabban és legrégebben használt szerek, dózisa az 1 mg/kg/nap (iv. vagy p.os) és a néhány grammos lökéskezelés között változhat. Ha nincs kontraindikációja, célszerű az adását mielőbb elkezdeni; lehetőség szerint mindig a plazmacsere után kell beadni. Óvatosan kell leépíteni, mert a dózis hirtelen csökkentésekor gyakori a visszaesés.

Ajánlás 19

Rituximab adása javasolt, ha 4 plazmacsere után sincs legalább minimális hematológiai válasz (a thrombocytaszám <50 G/l alatt marad, vagy emelkedése <2-szeres) (1D), átmeneti javulás után újra csökken a thrombocytaszám és/vagy új klinikai (neurológiai, cardiális stb.) tünet jelenik meg (1B) [10]. Kritikus állapotú betegeknél első vonalú kezelésként is adható rituximab (1B) [10, 38].

Ajánlás 20

A rituximabkezelés előtt a beteg HBV, HCV státusza tisztázandó (1C). Pozitivitás esetén infektológus bevonásával kell egyéni kezelési tervet kialakítani [39–41].

Rituximab

Indikáción túli alkalmazása ellenére ma már a standard terápia része. Terhességben nem adható, alkalmazását követően 1 évig nem javasolt a fogamzás [41]. A kezelés megkezdése előtt a virológiai státusz (kötelező: HBV és HCV, javasolt: CMV, EBV, VZV, Parvo B19) tisztázandó, mivel a szer vírusreaktivációt okozhat [39–41]. Pozitivitás esetén infektológussal együttműködve kell személyre szabott kezelési tervet kialakítani. A leggyakrabban használt dózis: 375 mg/m², általában hetente 1-szer, 4 héten át. A kis dózisu rituximabbal (100 mg hetente 1-szer, 4 héten át) kevesebb a nemzetközi tapasztalat, de saját magunk a Szent László Kórházban évek óta eredményesen alkalmazzuk. Ha a beteg állapota megengedi, a beadást követő napon plazmacserét nem végzünk, helyette FFP-infúziót adunk kb. 15–20 ml/kg dózisban. Ha a plazmacsere nem hagyható ki, akkor legalább 4 órának [42] kell eltelnie a következő plazmacsere előtt, továbbá mérlegelhető a szer gyakoribb, 3–4 naponkénti beadása. A rituximab gyorsítja a remisszió elérését, csökkenti a plazmacsereigényt és a kórházi kezelés hosszát,

valamint az 1 éven belüli relapszusrátát [43]. A 3 napon belül elkezdett rituximabterápia hatásosabbnak bizonyult a 3 napon túl indított kezelésnél [38]. Ha 4 plazmacserét követően sincs legalább minimális hematológiai válasz (a thrombocytaszám <50 G/l alatt marad, vagy a thrombocytaszám emelkedése <2-szeres), átmeneti javulás után újra csökken a thrombocytaszám, vagy a kezelés ellenére új klinikai (neurológiai, cardiális stb.) tünet jelenik meg, akkor rituximab adása javasolt. Kritikus állapotú betegeknél első vonalú kezelésként is szóba jön a plazmacsere és szteroidterápia mellett. Hatása 1–2 hét alatt alakul ki, ezért fulmináns esetekben a korai halálozást nem minden esetben képes kivédeni. A B-sejt depleció kb. 9 hónapig tart, ezt követően az inhibitor termelés visszatérhet, és ezzel összhangban a késői relapszusokra már nincs befolyása [43].

Ciklofoszfamid, vinkrisztin, azatioprin, ciklosporin, mikofenolat-mofetil stb.

Esetismertetések, kis esetszámú tanulmányok szólnak e szerek hatásossága mellett. Leginkább a ciklofoszfamid ajánlható [44]. Optimális adagolási módja nem ismert, a szisztémás autoimmun kórképekben használt sémák alkalmazása javasolható. A ciklosporin maga is indukálhat TTP-t, ezért használata során fokozott óvatosság szükséges.

Iv. immunglobulin

Szokásos adagja 2 g/kg, 2–5 nap alatt beadva. Hatásosságát illetően az irodalmi adatok nagyon ellentmondóak.

2.7.2.4. Thrombocytafunkció-gátló szerek**Ajánlás 21**

A thrombocytaszám emelkedő fázisában (>50 G/l) kis dózisu aszpirin adása javasolt (2B) [10, 45].

A thrombocytaszám emelkedő fázisában (thr>50 G/l) számos centrum alkalmaz aszpirin \pm dipiridamol kezelést a hirtelen emelkedő thrombocytaszám okozta visszaesés kivédésére. Hatásosságáról mindössze egyetlen vizsgálat számolt be [45]; de biztonságossága és olcsósága miatt a BCSH Guideline is javasolja [10].

Tiklopidin, klopidogrel önmagukban is okozhatnak TTP-t, ezért a TTP aktív szakában mindenképpen, azonban TTP-s kórtörténet esetén is általában kerülendő az alkalmazásuk. Vitális indikációval, nagyon szoros observáció mellett adhatók.

2.7.2.5. Splenectomia [46]**Ajánlás 22**

A tartós immunszuppresszív kezelés ellenére gyakran visszaeső betegeknél splenectomia javasolható (1C) [10, 19, 46].

Fulmináns esetekben mentő („salvage”) kezelésként, illetve a gyakori relapszusok kivédésére alkalmazható, az utóbbi esetben kifejezetten jó effektussal. Olcsó, megfelelő előkészítéssel rendkívül biztonságos, szignifikánsan csökkenti a relapsusrátát, nagyon hosszú időre tünetmentessé teheti a beteget, akkor is, ha az ADAMTS13 továbbra is kóros marad. A műtét előtt legalább 2 héttel a beteg védőoltása szükséges (*Pneumococcus*, *Meningococcus*, *Haemophilus influenzae* ellen). Amennyiben az immunizálás eredménye kétséges (immunszuppresszív hatású szerek egyidejű alkalmazása miatt), antibiotikus profilaxis lehet szükséges (penicillin, makrolid).

2.7.2.6. Szupportív terápia

Vörösvérsejt-transzfúzió

Ajánlás 23

Vörösvérsejt-transzfúzió során választott, fehérvérsejt-depletált készítmény adása javasolt (1C). Az indikáció felállítása során az anémia mértékén kívül a klinikai tüneteket is figyelembe kell venni, különösen cardiális érintettség esetén (1A) [10].

Az első transzfúzió előtt javasolt az Rh- és Kell-fenotípus meghatározása is. A transzfúzió minden esetben választott, fehérvérsejt-mentesített készítménnyel történjen. Besugárzott készítmény alkalmazása általában nem szükséges. Vörösvérsejtpótlás ritkán indokolt 70 g/l-es hemoglobintartalom felett [10].

Thrombocyta-transzfúzió

Ajánlás 24

Thrombocyta transzfúzió általában kontraindikált, kivéve az életveszélyes vérzést (1A) [10, 47].

A TTP-s beteg még egy számjegyű thrombocytaszám esetén is csak ritkán vérzik. Számos publikáció a kórkép progresszióját, a mortalitás növekedését észlelte thrombocyta-transzfúziót követően [47], míg más tanulmányok nem találtak ilyen összefüggést [48]. A jelenlegi, széles körben elfogadott nézet szerint thrombocyta-transzfúzió csak vitalis indikációval, súlyos vérzés esetén [10] jöhet szóba TTP-ben. Centrális vénabiztosítás esetén javasolt az akut szakban komprimálható helyen (vagy felnőtteknek periférián) biztosítani vénát, ezzel is csökkentve az alacsony thrombocytaszám mellett végzett beavatkozás szövődményeinek rizikóját.

Thromboprophylaxis

Ajánlás 25

Thromboprophylaxis céljából LMWH adandó 50 G/l feletti thrombocytaszám esetén (1B) [10].

Az immobilitás okozta thromboemboliás rizikó csökkentésére LMWH-profilaxis adandó.

Folsavpótlás

Ajánlás 26

Folsavpótlás szükséges a haemolysis szakában (1C) [10].

A folyamatos haemolysis miatt a folsavpótlás minden betegnél javasolt. A napi javasolt minimális dózis felnőtteknek 6 mg.

Hepatitis elleni vakcinálás

A BCSH-irányelv elvi megfontolások alapján javasolja a HBV elleni vakcinálást a kórkép aktív szakában, 50 G/L feletti thrombocytaszámnál [10]. Mivel a legtöbb beteg ilyenkor nagy dózisu szteroid ± rituximab kezelést kap, a vakcinálás haszna jelenleg kérdéses.

2.7.2.7. Kimenettel

Ajánlás 27

Minden beteget gondozásba kell venni és rendszeresen ellenőrizni kell. A betegeket részletesen tájékoztatni kell a kórkép természetéről, a relapsus kockázatáról, tüneteiről, a terhesség és az orális fogamzásgátlás veszélyeiről, valamint az ezzel kapcsolatos teendőkről (ld. csatolt „TTP-HUS beteg-tájékoztató”) (1C) [10].

Ajánlás 28

Fogamzásgátláshoz nem oestrogentartalmú készítményt javasolt alkalmazni (1C) [10].

Ajánlás 29

Hematológiai remisszió melletti ADAMTS13-deficiencia esetén preemptíve adható rituximab (2C) [10, 19, 49, 50].

Ajánlás 30

Hematológiai remisszió melletti ADAMTS13-deficiencia esetén a kezelést illetően személyre szabott döntés javasolható az anamnesis, az epizód(ok) súlyossága, a kezelésre adott válasz, az esetleges maradványtünetek és a beteg kívánságának figyelembevételével (1D).

A plazmacsere ellenére új tünet megjelenése vagy perzisztáló thrombocytopenia esetén plazmarefrakter állapotról beszélünk. Ilyenkor a plazmacsere és/vagy a gyógyszeres kezelés intenzifikálása javíthat még a beteg állapotán. Sokszor infekció, nem diagnosztizált autoimmun betegség vagy tumor áll a rezisztencia hátterében. A mortalitás sajnos még ma is 5–20% közötti.

A remisszióba került betegeket tartós gondozásba kell venni, ennek során az ADAMTS13-aktivitást is időnként ellenőrizni kell. A késői relapszusok gyakorisága kb. 20–50% [10]. Ezek kivédésére a French Thrombotic Microangiopathies Reference Centre munkacsoportja rituximab preemptív alkalmazását javasolja [49] azokban az esetekben, ahol az ADAMTS13-aktivitás deficiens marad, vagy újra azzá válik. A normálisnál kisebb ADAMTS13-

aktivitás ugyan kb. 3-szorosára növeli a relapszus valószínűségét [51], ennek tényleges bekövetkezése, ill. időpontja azonban teljesen kiszámíthatatlan. Nem mindenki ért egyet a preemptív rituximabkezeléssel [50], mivel számos beteg hosszú időn keresztül tünetmentes lehet 0%-os ADAMTS13-aktivitás mellett is, ill. az aktivitás spon-tán is javulhat. Ezért jelenleg a személyre szabott döntés javasolható az anamnesis, az epizód(ok) súlyossága, a kezelésre adott válasz, az esetleges maradványtünetek és a beteg kívánásának figyelembevételével.

A beteget tájékoztatni kell a kórkép természetéről, a terhesség és az orális fogamzásgátló-szedés veszélyeiről, a visszaesés lehetőségéről, leggyakoribb okairól (infekció, terhesség, műtét) és ezzel kapcsolatban a fokozott ellenőrzés szükségességéről (ld. csatolt „TTP-HUS beteg-tájékoztató”). A triggerként szereplő gyógyszerek (kinin, oestrogen, ticlopidin, clopidogrel, interferon, ciklosporin) általában kerülendők.

Sajnos nem mindig gyógyul nyomtalanul a TTP, renális [52], továbbá idegrendszeri [53] maradványtünetek maradhatnak vissza. Ezért nem lehet eléggé hangsúlyozni a gondozás fontosságát.

2.7.3. A jövő terápiás lehetőségei

Rekombináns ADAMTS13

Preklinikai fázisban van az alkalmazása. Elsődlegesen az USS kezelését tenné nagyon egyszerűvé és biztonságossá. Folynak a kísérletek olyan ADAMTS13-variáns előállítására, amelyhez az inhibitor kisebb affinitással kötődne, ugyanakkor az enzim proteolitikus funkciója fokozott lenne [54].

A VWF – thrombocyta-interakciót gátló terápiák

Ezek közös alapja, hogy a VWF A1 domain GPIIb/IIIa kötőhely blokkolásával felfüggeszthető a thrombocyta microthrombus-képződés – az alapfolyamat befolyásolása nélkül, vagyis ez azonnal hatásos tüneti terápia lehetne. Jelenleg erre 3-féle kísérleti gyógyszer – aptamer (ARC1779) [55], humanizált mAb (GBR600) [56], bivalens nanobody (ALX-0681) [57] – vizsgálatai folynak.

N-acetilcisztein (NAC) [58]

In vitro csökkenti a szolubilis VWF-multimerek számát és lebontja az ULVWF-t a mucinnal mutatott szerkezeti hasonlóságuknak köszönhetően. Kiegészítő kezelésként jönne elsősorban szóba, de nagyon kevés még a tapasztalat.

Bortezomib (Velcade) [59]

A myeloma multiplex kezelésében nagy sikerrel használt proteaszóma inhibitor. A terápia az ADAMTS13-antitestet termelő plazmasejtek elpusztítását célozná, ezek ugyanis rezisztensek a hagyományos immunszuppresszív terápiára. Mindössze egyetlen esetismertetés szól a hatékonysága mellett.

3. Haemolyticus uraemiás syndroma (HUS)

A kórképre jellemző triád a 6. táblázatban látható. A diagnózis felállításához mindhárom tünet egyidejű vagy egymást követő jelenléte szükséges [2, 12–16].

3.1. Klinikai formák

A HUS gyűjtőnév; a bevezető tünetek, az etiológia és a klinikai kórlefordulás alapján 2 nagy csoportja különböztethető meg (1. ábra). „Típusos” megnevezéssel a jellemzően egyetlen epizódként zajló, heveny gastroenteritist követően fellépő, szupportív kezelésre jól reagáló, súlyos krónikus vesekárosodáshoz vagy halálhoz csak ritkán vezető formákat soroljuk. „Atípusos” jelzővel azokat a kórformákat jelezzük, melyek az esetek többségében nem reagálnak a szükséges mértékben szupportív és/vagy veseptótló kezelésre, klinikai kórlefordulásuk relapszusokkal tarkított és/vagy családi halmozódást mutatnak. Gyakran progrediálnak, a veseműködés tartós hanyatlásához vezetnek; nem ritka a fatális kimenetel (ld. a 7. táblázatot is). HUS-ban az ADAMTS13-aktivitás jellemzően normális, vagy csak kissé csökkent.

3.1.1. Specifikus infekcióhoz társuló HUS-formák

3.1.1.1. Típusos HUS [61]

A verotoxint/shiga-like toxint termelő, enterohaemorrhagiás *E. coli* (VTEC/STEC, Magyarországon leggyakrabban *E. coli* 0157:NM) okozta fertőzésekhez kapcsolódó, típusos, avagy STEC-HUS jól definiált klinikai entitás. Egyes trópusi régiókban *Shigella dysenteriae*, valamint ritkán *Citrobacter freundii*-fertőzéshez is társul

6. táblázat | A HUS-ra jellemző klinikai triád [2, 12–16]

• Konzumpciós thrombocytopenia
• Microangiopathiás haemolyticus anaemia
<ul style="list-style-type: none"> • Igazolt akut vesekárosodás: proteinuria és/vagy glomeruláris haematuria és/vagy beszűkült vesefunkció, ennek besorolása a RIFLE kritériumok szerint [60]: • Risk: szérumkreatinin 1,5x-es emelkedése, vagy GFR-csökkenés >25%, vagy óradiurézis <0,5 mL/kg/óra 6 órán keresztül, • Injury: szérumkreatinin 2x-es emelkedése, vagy GFR-csökkenés >50%, vagy óradiurézis <0,5 mL/kg/óra 12 órán keresztül, • Failure: szérumkreatinin 3x-os emelkedése, vagy GFR-csökkenés >75%, vagy szérumkreatinin >353 mikromol/l akut emelkedéssel (>44 mikromol/l), vagy óradiurézis <0,3 mL/kg/óra 24 órán keresztül, vagy anúria 12 órán keresztül • Loss: tartós akut veseelégtelenség = vesefunkció teljes elvesztése >4 hét • ESRD: End stage kidney disease (>3 hónap)

hat. A kórképet Gasser írta le 1955-ben, de az *E. coli*-fertőzésekkel való összefüggését csak 1982-ben tisztázták. A gyermekkori akut veseelégtelenség leggyakoribb formája, azonban felnőttkorban sem ritka. A Magyarországon igazolt STEC-HUS megbetegedések kb. fele fordult elő felnőttekben. A közelmúltban Németországban lezajlott járványban is nagyszámú, súlyos, szövődmenyes felnőttmegbetegedést jelentettek. A fertőzés forrása a toxintermelő baktériummal szennyezett étel, ital, víz, de faecalis-oralis átvitel is lehetséges. A prodromális fázisban görcsös, vizes, majd gyakran véres hasmenés alakul ki, amelyet kb. 7–10 nap múlva követ az akut veseelégtelenség. A tünetekért a bélből felszívódó toxin a felelős. Receptora a globotriaozil-ceramid (GB3), a receptor-expresszió mértéke szerepet játszik a szöveti károsodás lokalizációjában és súlyosságában. A toxin a fehérjeszintézis gátlásán keresztül, közvetlenül toxikus hatású az érendothelre. Emellett a fehérvérsejt, thrombocytá és véralvadási rendszer aktivációja, cytokin (IL-6, IL-8, TNF) hatás, a stimulált endothelből megnövekedett ULVWF-kiáramlás, valamint másodlagos ADAMTS13-enzim-konzumpció is szerepet játszik a kóros következményekben. A verotoxinnal és a CD36 struktúrával keresztreagáló autoantitestek kialakulását is leírták [62].

Ritkán, a típusos HUS húgyúti infekció következménye is lehet. Ilyenkor a típusos hasmenés hiányzik, a toxintermelő kórokozó a vizeletből mutatható ki.

Leggyakrabban a veseelégtelenség uralja a klinikai képet, a neurológiai tünet ritka, a hypertoniás és metabolikus encephalopathia vagy az agyi microangiopathia következménye. Összességében véve, gyermekkorban viszonylag jóindulatú kórforma, a mortalitás 3–5%. Amennyiben a korai szakaszban jelentős vesefunkcióromlás volt megfigyelhető, a tünetek teljes regresszióját követően évekkel később kialakulhat hypertonia, proteiuria, illetve vesefunkcióromlás, ezért a betegek időszakos ellenőrzését biztosítani kell. Gyógyulását követően relapszus nincs. Idősebb korban a kórkép sokkal rosszindulatúbb, magas halálozással jár.

3.1.1.1.1. A típusos HUS diagnózisa

A típusos HUS felismerését segíti, hogy jellemzően akut gastroenteritist követően 7–10 nappal jelenik meg, gyakran ekkor a betegnek már nincs hasmenése. A típusos HUS diagnózisának megerősítését mikrobiológiai (tenyésztés, a kórokozó azonosítása, toxinkimutatás a székletmintában vagy az azonosított kórokozóban molekuláris biológiai vagy szerológiai eljárással) vagy immunológiai (STEC-törzsre jellemző LPS elleni szerológiai válasz igazolása) vizsgálatok segítik. Magyarországon az Országos Epidemiológiai Központ Enterális Nemzeti Referencia Laboratóriumában érhetőek el a fenti mikrobiológiai vizsgálatok. A típusos HUS kötelezően bejelentendő betegség.

3.1.1.1.2. A típusos HUS terápiája

A legutóbbi STEC-HUS járványok kapcsán a személyre szabott szupportív kezelés („best supportive care”, BSC) a korábbi járványokhoz képest javította a túlélési statisztikát [63]: ennek elemei a folyadék- és elektrolitegyensúly biztosítása, vérnyomás-beállítás, szükség szerint veseptóli kezelés, parenterális táplálás, transzfúzió. Bélmotilitást gátló gyógyszerek alkalmazása kerülendő. Az antibiotikumok alkalmazása lehetőség szerint kerülendő, mivel fokozhatják a baktériumok shiga-toxin-termelését. Újabb in vitro adatok szerint egyes antibiotikumok (meropenem, azithromycin, rifaximin) ebből a szempontból inkább előnyösek, ezért amennyiben antibiotikum alkalmazására van szükség, terápiás opciót jelenthetnek.

Ajánlás 31

Típusos HUS-ban a plazmacsere hatásossága nem bizonyított (2B) [63–65].

Ajánlás 32

Plazmacsere-terápia megkísérrelhető súlyos gyermekkori, neurológiai tünetekkel járó STEC-HUS-ban (2C) [30, 63, 66].

Plazmacsere a gyermekkori formában általában nem javasolható, a gyakorlatban alkalmazását a súlyos, neurológiai tünetekkel járó formákra tartjuk fenn [67]. Felnőttkorban, a skóciai epidemia során a plazmacsere mérsékelte a mortalitást [64]. Ezzel ellentétben, a 2011-es, németországi, túlnyomórészt felnőtt betegeket érintő járvány során a hosszan tartó plazmacsere a kimenetelt inkább rontotta [65].

3.1.1.2. Neuraminidáztermelő kórokozók által okozott HUS

Neuraminidáz termelő kórokozó, leggyakrabban *Streptococcus pneumoniae* [68] okozta fertőzést követően alakul ki, jellemzően 2 évnél fiatalabb gyermekeken. A betegség megjelenésére súlyos klinikai állapot (leggyakrabban empyemával járó pneumonia, vagy meningitis) jellemző, gyakran kíséri DIC. Gyógyulását követően relapszus nem ismert. A vese szempontjából a hosszú távú prognózis általában jó, a vesefunkció a legtöbb betegnél rendeződik.

A neuraminidáz a vörösvérsejtek, a thrombocyták, és az endothelsejtek felszínéről szialosavat hasít le, melynek következtében rejtett, ún. Thomsen–Friedenreich (T) antigének kerülnek felszínre. Ezek ellen reguláris anti-T ellenanyagok találhatók a keringésben. A folyamatot T aktivációnak nevezik, a vércsoport-szerológiai vizsgálatok során észlelt polyagglutinatio, autokontroll-pozitivitás, Coombs-pozitivitás hívhatja fel rá a figyelmet.

3.1.1.2.1. A *Streptococcus pneumoniae*-HUS (SP-HUS) diagnózisa

Az SP-HUS biztos kórisméje kimondható, ha mindhárom feltétel fennáll:

- igazolható a *Streptococcus pneumoniae*-fertőzés (antigén-, nukleinsav-kimutatási vagy tenyésztésalapú módszerekkel), és
- igazolható a HUS (ld. 6. táblázat), és
- kizárható a DIC (vérzés nem igazolható, a fibrinogén-szint nem csökkent).

Újabban lehetőség van a neuraminidázaktivitás kimutatására a betegek szérumból, ez segíthet a terápiás döntések meghozatalában.

3.1.1.2.2. A *Streptococcus pneumoniae*-HUS (SP-HUS) terápiája [68]

Mivel az alternatív komplementaktivációs út szabályozásában központi szerepet játszó H-faktor a szialsavhoz kötődik a sejtmembránon, és átfedés lehet a neuraminidázmediált és a komplementmediált aHUS formák között [69], indokolt a diagnosztikai vizsgálatok kiterjesztése a komplementrendszer irányába is.

Ajánlás 33

***Streptococcus pneumoniae*-mediált HUS-ban friss fagyasztott plazma alkalmazása kerülendő. A plazmaferézishez albumin használata javasolt (2C) [70–72].**

A streptococcus-mediált HUS terápiájában döntő a fertőzés megfékezése, szupportív és veseptlő kezelésre csak szükség esetén kerül sor. A plazmaterápiával kapcsolatban kontrollált tanulmányok nem állnak rendelkezésre. A patogenezis alapján a plazmaterápia (FFP-infúzió vagy FFP-szubsztitúcióval végzett plazmacsere) kerülendő az akut szakban, helyette albuminszubsztitúcióval végzett plazmacsere lehet hatásos [70–72]. Az a ferezistől várható haszon és a lehetséges mellékhatások, szövődmények egyéni mérlegelést igényelnek.

Újabban influenza A-vírus-fertőzés szövődményeként is leírtak HUS-t, melynek patogenezise a fentiekhez hasonló a virális neuraminidáz hatása miatt. Terápiája alapvetően az antivirális és szupportív kezelésen alapul, plazma adása ebben a kórformában is kerülendő.

3.1.2. Komplementmediált atípusos HUS [2, 12]

Heterogén betegségecsoport, amelybe sporadikus vagy familiáris formák tartoznak, ezek egyes esetekben trigger tényezők (melyek lehetnek fertőzések vagy terheség) hatására manifesztálódnak. Közös jellemzőjük a súlyos, progresszív lefolyás, egyes esetekben relapszusokra való hajlam. Minden életkorban előfordulhat, de főleg csecsemőket, gyermekeket és fiatal felnőtteket érintő betegség. Ritka; becsült incidenciája kb. 1–2/1 millió [12, 73]. Az alábbi, kóreredet szerinti alcsoportok ismertek:

3.1.2.1. A komplementreguláció zavara által okozott, atípusos HUS

Az aHUS-esetek több mint felének háttérében a komplement alternatív út regulációs zavara áll. A komplementrendszer alternatív útjának jellegzetessége a spontán aktiváció a folyamatos C3-hasadás miatt, valamint az amplifikáció. A komplementregulációs fehérjék feladata ennek a folyamatnak a féken tartása.

Az alternatív út szabályozási zavarának háttérében funkcióvesztéses vagy funkciónyeréses mutációk vagy a H-faktor-regulátor működését gátló autoantitest állhat. Eddig a H-faktor (HF), I-faktor (IF), membránfaktor proteín (MCP, CD46), B-faktor (BF) és C3, valamint a thrombomodulin gének mutációit írták le aHUS háttérében. Az HF, IF, MCP és thrombomodulin-mutációk jellemzően funkcióvesztő mutációk, vagyis az érintett fehérje nem termelődik, vagy nem működik. A BF és C3 esetében funkciónyerő mutációról van szó, mely az élet-tani szabályozást nem engedi érvényre jutni. Bármelyik mechanizmus áll is a háttérben, a végeredmény az alternatív út amplifikációja, a terminális reakcióút túlzott aktiválódása, következményes szöveti károsodással (gyulladások, anafilatoxinok és sejtkárosító komplex hatására).

A komplementmediált aHUS-ra klinikailag a lappangó kezdet, kifejezett hypertonia, fluktuáló klinikai tünetek és laboratóriumi leletek jellemzőek. A betegség megjelenéséhez a legtöbb esetben közvetlen kiváltó tényezők vezetnek, pl. infekció vagy terhesség. Számos hasonlóságot mutat a TTP-vel. Nem csak a gyermekkor betegsége, az esetek kb. 60%-a a fiatal felnőtt korban manifesztálódik, de 85 éves betegen is leírták. Gyermekkorban az esetek fele 2 éves kor előtt kezdődik. Gyermekkorban a fiú/leány arány közel azonos, míg felnőtteknél enyhe női túlsúly figyelhető meg. A betegek több mint felénél (gyermek: 58%, felnőtt: 73%) a thrombocytaszám 50 G/l feletti, 15%-uknál pedig normális (>150 G/l). A gyerekek 59%-a, míg a felnőttek 81%-a szorul dializáló kezelésre a folyamat kezdetén [73]. Bár a klinikai képet többnyire az akut veseelégtelenség uralja, extrarenális (neurológiai, cardiális, egyéb) tünet 10–30%-uknál fordul elő [74]. A felnőttek és a familiáris esetek prognózisa rosszabb. A relapszusok zöme 1 éven belül jelentkezik. A kimenetelt a genetikai háttér jelentősen befolyásolja [73, 74].

Az igazoltan komplementmediált aHUS-betegek kb. 50–60%-ának esetében azonosítható a genetikai predispozíció, amely többnyire összetett: egy vagy több ritka variáció (mutációk) és egy vagy több rizikó-polimorfizmus vagy -haplotípus összeadódó hatásából áll. A komplex genetikai predispozíció miatt a mutációk penetranciája alacsony, kb. 40–50%-os. A leggyakrabban érintett gének a következők:

H-faktor- és I-faktor-mutációk

A HF a leggyakoribb (30%), az IF jóval ritkább (5–10%) mutáció. Mindkét faktor esetében számos mutáció ismert. Mindkét fehérjét döntően a máj termeli. A HF feladata a C3-konvertáz gátlása és – kofaktorként – az IF segítése. Az IF az alternatív és a klasszikus utak szabályozásában egyaránt részt vesz, a C3b és C4b alfa-láncát hasítja kofaktor jelenlétében. A HF gén az 1-es kromoszóma q32 locusán, az IF gén a 4-es kromoszóma q25 locusán helyezkedik el. HF- vagy kombinált IF-mutáció hordozása esetén a prognózis rossz, az irreverzibilis veseelégtelenség kialakulásának valószínűsége 60–70%. A veseátültetést követő relapszus a HF-mutációknál kb. 80%-ban, IF-mutációknál közel 100%-ban következik be a transzplantációt követő 2 éven belül.

MCP-mutációk

A membránkofaktor protein (MCP vagy CD46) a vörösvérsejteken kívül minden más sejten expresszáldó, transzmembrán glikoprotein. Az IF működéséhez szükséges sejt felszíni kofaktor; mutációi az aHUS-betegek kb. 10%-ában mutathatók ki. Penetranciája úgyszintén alacsony. MCP-mutáció-hordozókon az aHUS leggyakrabban infekciót követően manifesztálódik. Klinikai lefolyását tekintve jóindulatú kórforma, a betegek 20–30%-ánál alakul ki irreverzibilis veseelégtelenség. Transzplantációt követően a relapszus gyakorisága alacsony (a donor szerv nem hordozza a mutációt), kb. 10%. A relapsus kiváltásában a poszttranszplantációs ISU-kezelésnek és az endotheliális microchimerismus kialakulásának egyaránt szerepe lehet. Mivel nem solubilis fehérje, a plazma-cserétől nem várható eredmény.

Egyéb mutációk

- A **C3 és B-faktor** funkcionyeréses mutációi klinikailag kedvezőtlen lefolyású, gyakran tartós hypocomplementaemiával kísért aHUS-ként jelennek meg, melyeknél vesetranszplantációt követően a betegség nagy eséllyel újul ki a graftban.
- A **thrombomodulin** (amely komplement szabályozó szerepet is betölt) mutációit azonosítják a legkisebb arányban aHUS-betegekben, és több mutáció esetén a variáció funkcionális relevanciája sem igazolható. A thrombomodulin mutációkkal kapcsolatban nincs elegendő klinikai tapasztalat.
- **Plazminogén** mutációkat egy 2014-ben, az USA-ban új generációs szekvenálási módszerrel végzett vizsgálat során aHUS-betegekben igazoltak. Megállapították, hogy a plazminogén/plazmin funkcióját károsan érintő variációk halmozódnak aHUS-betegekben, ezáltal akadályozva a thrombusok lebontását [75].

3.1.2.2. Autoimmun (anti-H-faktor-autoantitest-pozitív) aHUS [76]

Az autoimmun mechanizmus talaján kialakuló aHUS – földrajzi elhelyezkedéstől függően – a betegek 6–56%-

ában igazolható. Jellemzője az alternatív út regulátora, a H-faktor ellen képződött autoantitestek jelenléte, melyek megjelenése szoros kapcsolatot mutat a komplement-H-faktor-szerű 1 és 3 gének (*CFHR1*, *3*) homozigóta deléciójával. Igazolták, hogy az anti-HF-autoantitestek a H faktor C-terminális doménhez kötődnek, funkcionális hatásuk a HF sejt felszínhez való kötődésének gátlása, vagyis az FH regulátorfunkciójának neutralizálása.

7. táblázat | Atípusos HUS-ra utaló jelek [13]

• Hasmenés hiánya a HUS kialakulása előtt
vagy
• Hasmenés + az alábbiak közül <u>bármelyik</u> jelenléte:
– Életkor < 6 hónap vagy > 5 év
– Lappangó kezdet
– HUS-relapszus
– Feltételezett, korábbi HUS
– Korábbi tisztázatlan anaemia vagy thrombocytopenia
– Bármely szervátültetést követő HUS
– Családban, aszinkron előforduló HUS

3.1.3. Egyéb atípusos HUS-formák

Klinikailag atípusos lefolyást mutató HUS háttérben állhatnak egyéb, nem a komplementrendszer működésének hibáján alapuló mechanizmusok is.

3.1.3.1. Defektív kobalamin C-metabolizmus okozta HUS

Autoszomális recesszív öröklésmentű HUS képében jelentkezhet. Már a születéskor kibontakozó fulmináns, vagy csak később manifesztálódó, enyhébb lefolyású formák [77, 78] egyaránt ismertek. Táplálási nehézség, növekedési elmaradás, hypotonia, lethargia, leukopenia, megaloblastos anaemia irányíthatják rá a figyelmet. Jellemző tünete a hyperhomocysteinaemia és metylmaloninuria. A betegség fennállása az MMACHC gén szekvenálásával igazolható, ennek mutációit írták le a legtöbb érintett esetben. A vesebiopszia kórjelző. Terápiája: hidroxikobalamin naponkénti adagolása. A kobalamin E és G betegséghez kapcsolódó aHUS-t is közöltek már.

Nagyon ritkán az anaemia perniciosa [79] is járhat microangiopathiás vérképpel. A klinikai kép azonban inkább TTP-nek felel meg, az aránytalanul magas LDH hívhatja fel rá a figyelmet, az alacsony serum-B12-vitamin-szint és a normális ADAMTS13-aktivitás pedig segít az elkülönítésben.

3.1.3.2. Diacilglicerol-kináz-epsilon (DGKE)-mutációhoz kapcsolt HUS

2013-ban írták le a DGKE gén funkcióvesztéses mutációit korai kezdetű, jellemzően súlyos hipertóniával mani-

feszülődő HUS háttérben [80]. A DGKE-funkciózavar nem érinti a komplementrendszer működését, ugyanakkor az endothelsejtek protrombotikus változását okozza. 2014-ben közölték, hogy egyes betegekben együtt van jelen a komplement alternatív út szabályozási zavara és a DGKE-mutáció, és a komplement-rendellenesség nagyban meghatározza a HUS megjelenésének idejét és súlyosságát [81]. Indokolt ezért minden korai kezdetű HUS esetén a genetikai vizsgálatokat a DGKE irányában is kiterjeszteni.

3.2. Az atípusos HUS diagnózisa [1]

Ajánlás 34

Akut veseelégtelenség esetén az aHUS lehetőségére mindig gondolni kell (1D). A klinikai diagnózisnak az anamnesisen, klinikai tüneteken (6. és 7. táblázat) és a rutin laboratóriumi eredményeken (2. táblázat) kell alapulnia (1A) [13, 14].

Ajánlás 35

A kóreredet tisztázásához szükséges vizsgálatokat (3. táblázat) a plazma terápia megkezdése előtt kell elindítani (1B) [14].

Ajánlás 36

Az aHUS klinikai gyanúja esetén minden betegnél részletes komplementdiagnosztikai vizsgálatot (komplement C3, C4, alternatív összkomplement, HF, BF, IF, MCP expresszió, anti-HF-antitest ± genetika) és ADAMTS13 (aktivitás, inhibitor ± genetika) kell végezni (1B) [1, 14, 15].

Az atípusos HUS kórismézése többlépcsős folyamat. Jelenleg nem rendelkezünk olyan vizsgálómódszerekkel, amelyekkel a szükséges diagnosztikai szenzitivitással és specificitással, rövid idő alatt igazolni lehetne az aHUS-t. Emiatt az aHUS diagnosztikája egyrészt kizárásos módon, másrészt csak összetett verifikálás alapján lehetséges.

1. lépés:

A HUS klinikai diagnózisának alapja az akut thrombocytopenia, akut, nem-immun (Coombs-negatív) fragmentocytás haemolyticus anaemia és a vesekárosodás felismerése (6. táblázat). A korai diagnosztikus lépéseket a 2. táblázatban, míg az „atípusos” jelként értékelendő klinikai tüneteket a 7. táblázatban [13] foglaltuk össze. Helyes megfontolás, hogy amennyiben a HUS nem akut gastroenteritis (hasmenés), súlyos, purulens tüdőgyulladás vagy meningitis, vagy valamely nyilvánvaló kísérőbetegség mellett jelenik meg, akkor az klinikailag atípusosnak ítélandó.

2. lépés:

Az aHUS diagnózisának megerősítése. Atípusos HUS gyanúja esetén, még az esetlegesen szükséges szupportív terápia (vörösvérsejt, ill. ritkán thrombocytatranszfúzió), illetve a plazmaterápia megkezdése előtt, vérmintát kell

venni részletes komplementdiagnosztikai (klasszikus és alternatívút-aktivitás, C3, C4, HF, IF, BF-szint, MCP-expressio, anti-HF antitest szűrés és komplementgenetika) és ADAMTS13 (enzimaktivitás, inhibitor és genetika) és kobalaminanyagcsere-vizsgálatok céljára [14]. A nagyobb laboratóriumokban gyakran elérhető C3 és C4 vizsgálatok normálértéke a komplementdefektus lehetőségét nem zárja ki, ezért a vérmintát speciális laboratóriumba (pl: Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Kutatólaboratórium) [82] kell küldeni, vagy a laboratórium utasítása szerint a szállításig le kell fagyasztani (ld. <http://semmelweis.hu/kutlab/betegellatas/122-29608/>). Az eredmény megvárására természetesen általában nincs mód, a terápia 24 órán belül elkezdendő és a későbbiekben az eredménytől függően módosítandó (intenzifikálás, felfüggesztés, kiegészítés, lásd alább). Az aHUS diagnózisa akkor is kimondható, ha komplex vizsgálatokkal sem bizonyítható az alternatív út szabályozásának zavara, vagy a hypocomplementaemia. Ugyanakkor az aHUS-esetek döntő többségében a pozitív lelet megerősíti a diagnózist és alkalmas a terápia vezetésére, hatásosságának nyomon követésére (legfőképpen pl. az anti-HF-autoantitest-pozitív betegek esetében).

Amennyiben a beteg klinikai állapota megengedi a vesebiopsziát, a szövettani mintában észlelhető típusos elváltozások mind a diagnózist egyértelműsítik, mind prognosztikai értékűek a vesefolyamat/veseelégtelenség kimenetelének megítélésében.

3. lépés:

A differenciáldiagnosztika eredményeinek és a kezdeti terápiára adott klinikai válasz jeleinek kritikus értékelése. A HUS megjelenését követő 2–4 nap során, ha nem igazolható verotoxinpozitivitás, ADAMTS13-hiány, a kobalamin-anyagcsere zavara vagy HUS-szövődményt indokoló alapterbetegség (ld. 2. ábra és 10. táblázat), az aHUS diagnózisa kimondható. Atípusos HUS esetén a kezdeti (szupportív, infekciókontroll, plazmakezelés) terápiára adott klinikai válasz (thrombocytaszám-emelkedés, haemolysis mértéke, vesekárosodás súlyossága, az oligoanuria oldódása, a vesefunkció javulása, egyéb szervi károsodások jelei) sok esetben részleges, lassú ütemű, vagy teljesen elmarad.

4. lépés:

A genetikai vizsgálatok indokoltsága és eredményei aHUS-ban. Genetikai vizsgálatok (CFH, CFI, CD46, CFB, C3, THBD2, CFHRI-5 DNS-szekvencia-analízis a ritka és gyakori variációk azonosítására, valamint kópia-szám-meghatározás) elvégzése indokolt minden új aHUS-beteg esetében, már az első betegségépezód során. Úgyszintén indokolt a részletes genetikai vizsgálat HUS-relapszus esetén (igazolt vagy gyanított), HUS aszinkron családi halmozódása esetén (szűrővizsgálat céljából és későbbi betegség rizikó megítélésére egészséges családtagokban), valamint ha az aHUS a terhesség

alatt vagy után lép fel, valamint transzplantációt követően jelentkező *de novo* HUS esetén. Korábbi HUS miatt tartós vesekárosodást elszenvedett beteg újabb vese-transzplantációja csak részletes genetikai kivizsgálást követően engedhető meg. A fenti genetikai vizsgálatok elvégzése aHUS-betegekben a következő tényezők miatt indokolt: a betegség komplementmediált formájának igazolása (a betegek kb. 50–60%-ában lehetséges); a prognózis és a relapszusrizikó felbecslése; genetikai tanácsadás, családszűrés lehetősége; szükség esetén transzplantációs protokoll tervezése (ld. alább); hatásos és biztonságos terápiás protokollok kiválasztásának lehetősége, döntés a szükséges terápia időtartamáról.

A fenti genetikai vizsgálatok eredményeinek értékelésekor fokozott körültekintés szükséges. Csak olyan mutációk minősíthetők nagy biztonsággal kóroki hatásúnak aHUS esetén, amelyeket korábban már leírtak aHUS-betegekben (egészségesekben azonban nem), és káros funkcionális hatások igazolt. Úgyszintén okozati hatásúnak tekintendő az a mutáció, amelyet ugyan nem írtak le sem betegekben, sem egészségesekben, azonban kísérletesen igazolható a variáció káros hatása a komplementregulációra. Minden egyéb esetben gondos *in silico*, kísérletes és családi analízis stb. szükséges az adott variáció funkcionális relevanciájának és kóroki jellegének megítéléséhez.

3.3. Az atípusos HUS terápiaja [1, 83]

A HUS diagnosztikus és terápiás algoritmusát a 2. ábrán szemléltetjük.

Mivel felnőttkorban a szekunder HUS/TTP esetek előfordulása a gyermekkorinál sokkal gyakoribb (tumor, autoimmun megbetegedések, terhesség, malignus hipertonia és egyéb provokáló tényezők lehetősége miatt), ezért a kóroki háttér feltárása és a végleges diagnózis felállítása általában hosszadalmasabb.

Ajánlás 37

Atípusos HUS gyanúja esetén a gyermek beteget haladéktalanul a HUS kezelésében jártas olyan gyermeknefrológiai központba kell áthelyezni, ahol gyermekdialysis és gyermek-intenzív osztályos ellátás is rendelkezésre áll (1D) [12].

Ajánlás 38

Atípusos HUS gyanúja esetén a felnőtt beteget haladéktalanul a TTP-HUS kezelésében jártas olyan kórházba kell áthelyezni, ahol dialysis, 24 órás apheresisszolgálat, az intenzív osztályos, nefrológiai és hematológiai ellátás lehetősége egyaránt rendelkezésre áll (1D).

Ajánlás 39

Az aHUS klinikai diagnózisa esetén gyermekeknél első vonalú eculizumabkezelést kell alkalmazni, és ezt 24–48 órán belül kell elkezdni (1B) [1, 12, 83, 84] – ennek hiányában 24 órán belül plazmacsere kezdése javasolt (8. táblázat) (1B) [13].

Ajánlás 40

Felnőtt betegeknél aHUS klinikai diagnózisa esetén első vonalú kezelésként plazmacsere javasolt a TTP-plazmacsere-protokoll szerint (5. táblázat). A kezelés végpontját azonban egyénre szabottan kell meghatározni (1B) [14, 16, 83, 85].

Ajánlás 41

Felnőtt betegeknél is eculizumabra kell váltani, ha 5 plazmacserét követően sincs legalább 25%-os javulás a szérumkreatinin szintben, függetlenül a hematológiai tünetek és paraméterek változásától, ha a szekunder okok nagy valószínűséggel kizárhatók (1B) [83].

Ajánlás 42

Az aHUS relapszusa esetén felnőtt betegnél is első vonalú eculizumabkezelés javasolt (1B) [83].

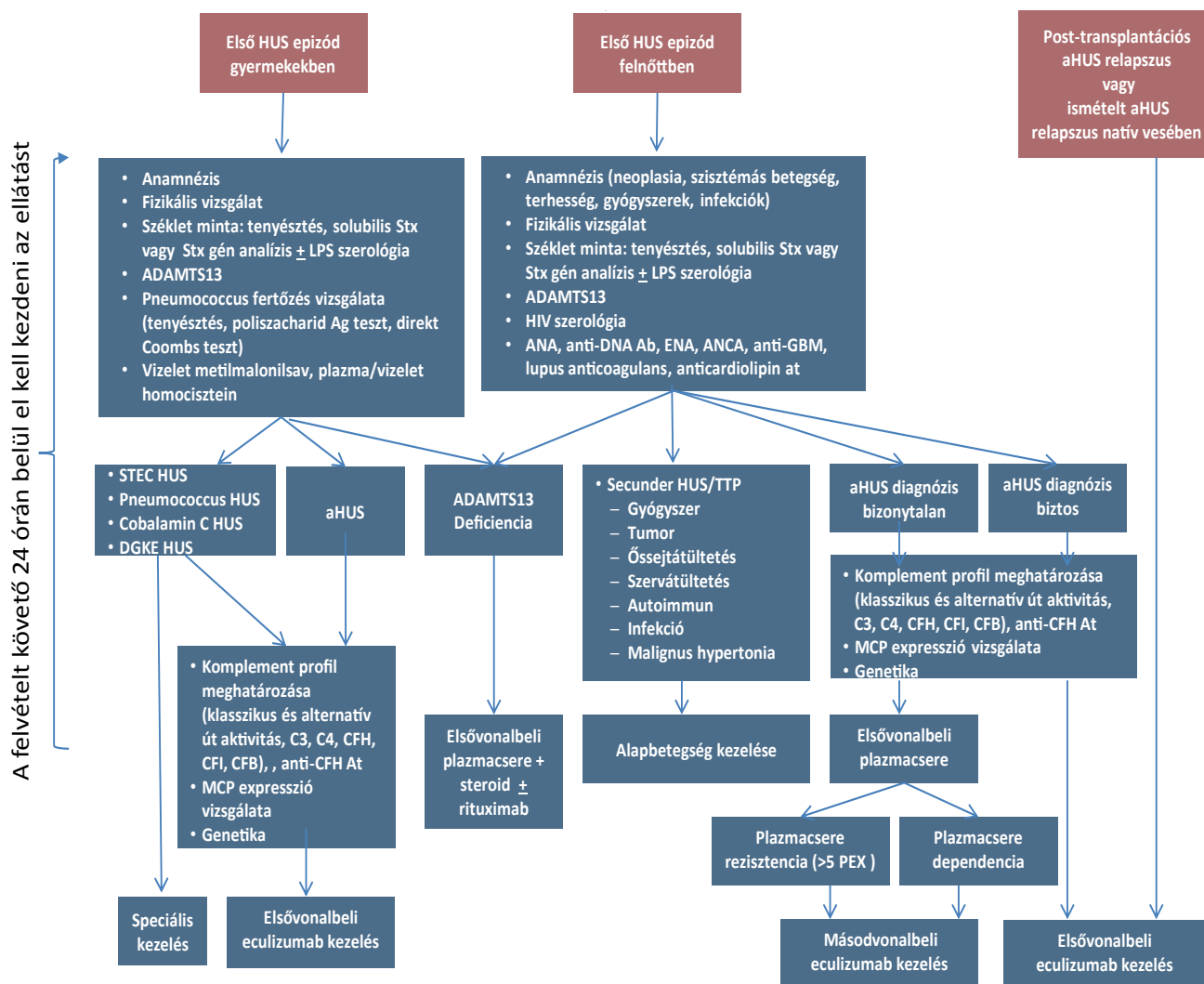
3.3.1. Plazmaterápia

A European Pediatric Study Group for HUS gyermekekre vonatkozó, standardizált, 2009-es plazmacsere-ajánlását a 8. táblázat tartalmazza [13]. A TTP plazmacsere-protokolljához képest nagyobb volumenű, de fokozatosan csökkenő frekvenciájú kezelést javasol. Felnőtteknél a TTP-nél leírt naponkénti plazmacsere-protokoll továbbra is használható [14].

Tisztán faktorhiányt eredményező mutációk esetében a plazmacsere helyett a plazmatranszfúzió (10–20 ml/kg, heti 2–3-szor) is hatásos lehet, ha a beteg a folyadékterhelést jól viseli. Kóros fehérjét eredményező mutációkban, különösen a funkcionyeréses formákban, a kóros fehérje eltávolítása is szükséges, ezért ezekben az esetekben mindenképpen a plazmacsere választandó. A THBD-mutációk esetén plazmaterápiára a betegek 80%-a reagált [74]. MCP-mutáció fennállása esetén a klinikai kép súlyossága szerint kell dönteni a plazmaterápiáról [74], amelyről DGKE-mutációkban lényeges eredmény nem várható.

A European Pediatric Study Group for HUS irányelv által javasolt, nagy volumenű plazmacsere-protokollal szerzett tapasztalatok azt mutatták, hogy az intenzív plazmacsere hatása szuboptimális: a kezelés 33. napján a gyermekek 17%-a még mindig dialízisre szorult, 11%-nál nem alakult ki hematológiai remisszió, és 31%-uknál valamilyen centráliskanül-szövődmény lépett fel [84]. Ezért a legutolsó Nemzetközi Consensus gyermekek számára már első vonalú komplementgátló kezelést javasol, amelyet 24–48 órán belül meg kell kezdeni, és plazmacsere csak ennek hiányában jön szóba [1].

A French Study Group for aHUS/C3G munkacsoport javaslata alapján felnőtteknél is komplementgátló kezelésre kell áttérni, ha 5 plazmacserét követően a szérumkreatinin-szint kevesebb mint 25%-kal csökken, függetlenül a hematológiai paraméterek alakulásától [83]. Ez az időtartam általában elegendő az ADAMTS13-hiány, verotoxin, autoimmun mechanizmus, tumor, gyógyszerhatás, infekciók kizárására. Megerősítheti a di-



2. ábra | A HUS diagnosztikus algoritmus és a lehetséges terápiás módok összefoglalása. A részletes magyarázatot ld. a szövegben, a [83] referencia alapján, módosításokkal.

agnózt a szövettani vizsgálat is, ha a vesebiopszia az aktuális thrombocytaszám és haemostasisparaméterek mellett biztonsággal elvégezhető. Igazolt aHUS-relapszus esetén felnőttéknél is az első vonalú eculizumab-kezelés választandó, plazmacsere csak az eculizumab-kezelés megkezdéséig jön szóba.

Amennyiben nem áll rendelkezésre komplementgátló terápia, a plazmacserét a komplett remisszióig vagy az elérhető maximális javulásig, de legalább 1 hónapig folytatni kell. Kivétel, ha időközben kiderül, hogy a folyamat plazmarefrakter, vagy más specifikus terápiát igényel, vagy a kezelés folytatását megakadályozó mellékhatás jelentkezik [13].

A maximális javulás elérését követően a kezeléseket óvatos ritkítása mellett fenntartó terápiára lehet áttérni, ennek mikéntjét (plazmainfúzió vagy plazmacsere), dózisát, gyakoriságát és időtartamát egyénileg kell meghatározni [2].

Eculizumab hiányában, végstádiumú veseelégtelenség esetén, plazmacserére nem reagáló, súlyos, befolyásolha-

atlan aktív thromboticus microangiopathia és/vagy malignus hypertonia esetén kétoldali nephrectomia is szóba jöhet [14, 15].

3.3.2. Célzott komplementgátló kezelés (eculizumab)

Ajánlás 43

Eculizumab tervezett alkalmazása előtt legalább 2 héttel a betegeket a Meningococcuszal szemben vakcinálni kell (Menveo: „A, C, Y, W135” szerotípusok ellen, Bexsero: „B” szerotípus ellen). Két héten belül indított kezelésnél antibiotikum-profilaxist (metilpenicillin vagy makrolid) kell alkalmazni. A 18 év alatti betegeket Meningococcus és Haemophilus influenzae ellen is oltani kell (1A) [1, 12, 86].

Ajánlás 44

Eculizumabkezelés előtt a betegeket betegtájékoztató füzetrel (ld. csatolva) és betegbiztonsági kár-

tyával kell ellátni. Részletesen fel kell világosítani őket arról, hogy az oltás nem nyújt teljes körű védelmet (ld. csatolt tájékoztató). Ha láz, láz kíséretében fejfájás és/vagy tarkómerevség jelentkezik vagy fényérzékenység lép fel, azonnal orvoshoz kell fordulniuk, mert ezek a jelek *Meningococcus*-fertőzést jelezhetnek (1A) [1, 86].

Ajánlás 45

Az eculizumabterápia megkezdése előtt felnőtt betegek esetében vesebiopszia javasolt a diagnózis pontosítása és a prognózis megítélése céljából, ha a hematológiai paraméterek és az egyéb körülmények ennek biztonságos kivitelezését lehetővé teszi (1D) [12].

Ajánlás 46

Három hónapnál hosszabb dializáló kezelés esetén az eculizumabterápia megkezdésének vagy folytatásának indikációját a vese szövettani leletének birtokában javasolt eldönteni (1C) [1].

Ajánlás 47

Súlyos extrarenalis tünetek kezeléséhez az eculizumabterápia akkor is javasolható, ha a veseelégtelenség nem reverzibilis (2C) [1].

Ajánlás 48

Az eculizumab kezelés elindításakor a 2. dózis előtt vett vérmintából a komplementgátlás ellenőrzése javasolt, szaklaboratóriumban (mintavételi útmutatót ld.: <http://semmelweis.hu/kutlab/betegellatas/122-29608/>). A későbbiekben ugyancsak ellenőrzés javasolt, ha klinikailag gyanítható a hatékonyság hiánya vagy csökkenése (1C) [1].

Ajánlás 49

Az eculizumab hatástalanságának kimondásához legalább 3 hónapos eredménytelen eculizumab kezelés szükséges (1C) [1].

Ajánlás 50

Az eculizumabkezelés felfüggesztése esetén nagyon szoros obszerváció szükséges. Reaktiváció esetén (kontraindikáció hiányában) újra kell indítani a kezelést (1B) [1].

Az eculizumabot a PNH és az aHUS kezelésére törzskönyvezték. Humanizált IgG2/4 kappa-monoklonális antitest, mely a C5 komplementfehérjéhez nagy affinitással kötődve megakadályozza annak hasítását és így a C5b-9 komplex (membrane attack complex) kialakulását. Ezáltal leállítja a komplement terminális út aktiválódását anélkül, hogy az alternatív út aktivációját a C3 szintjén érdemben befolyásolná. Nem gátolja a proximális komplementaktivációt, amely nélkülözhetetlen a mikroorganizmusok opszonizációjához és az immunkomplekx kiürüléséhez.

A nemzetközi ajánlások [1, 83] és az eculizumab alkalmazási előírása [86] szerint a kezelés megkezdése előtt legalább 2 héttel a betegeket a *Meningococcus*szal szemben vakcinálni kell (Menveo: „A, C, Y, W135” szerotípusok ellen, Bexsero: „B” szerotípus ellen). Két hé-

ten belül indított kezelésnél antibiotikum-profilaxist (penicillin V vagy makrolid) kell alkalmazni. Egyes országokban ez a kezelés teljes időtartama alatt és a befejezése után még további 60 napig kötelező. A betegeket betegtájékoztató füzetrel és megbiztonsági kártyával kell ellátni, és részletesen fel kell világosítani arról, hogy az oltás nem nyújt 100%-os védelmet. Amennyiben láz, lázzal kísért fejfájás és/vagy tarkómerevség, vagy fényérzékenység lép fel, azonnal orvoshoz kell fordulniuk, mert ezek a jelek *Meningococcus* fertőzésre utalhatnak. A 18 év alatti betegeket *Haemophilus influenzae* és *Pneumococcus* ellen is oltani kell.

Alkalmazása terhesség alatt biztonságos, az újszülött komplementrendszerére nincs hatással [87]. A kevés klinikai tapasztalat miatt az alkalmazási előírás még nem javasolja a terhesség alatti használatát, ezért ehhez jelenleg OGYI off label engedélyt kell kérni.

Alkalmazása infúzióban, kezdetben hetente 1 alkalommal 4 héten át, majd 2 hetente történik. A komplementgátlás kialakulását szaklaboratóriumban ellenőriztetni kell a 2. adag beadása előtt és minden olyan esetben, amikor klinikai gyanú van a hatás csökkenésére vagy megszűnésére. Ha a gátlás nem teljes, ennek oka tisztázandó. A háttérben komplementaktiváló állapotok (infekciók, terhesség, műtéti beavatkozás, trauma, ischaemiareperfusio), masszív proteinuria, helytelen dózis és – nagyon ritkán – genetikai rezisztencia (rezisztens C5-variáns ázsiai és japán betegeknél) [1] is meghúzóthat. A kezelés elindítását követően a plazmaterápia általában elhagyható, de ha ez mégsem lehetséges, akkor az adagolást a gyógyszerkönyvi előirat szerint módosítani kell. Hatása aHUS-ban azonos komplementmutációval járó és mutáció nélküli esetekben. Extrarenalis tünetek esetén a veseelégtelenség reverzibilitásától függetlenül indokolt az alkalmazása [1]. Korán (HUS megjelenését követő <28 nap) indított kezelés esetén nagyobb a veseműködés helyreállításának valószínűsége [83]. Három hónapnál hosszabb dializáló kezelés után a vesebiopszia dönthet a gyógyszer adásának vagy folytatásának javallatáról [1]. A kezelést elméletileg élethosszig kell folytatni, kivéve, ha a szer hatástalannak bizonyul. Ennek kimondásához legalább 3 hónapos kezelés szükséges [88]. Az enormis kezelési költségek, a potenciális szövődmények lehetősége, valamint a rendszeres infúziós kezelés okozta kellemetlenség elkerülése céljából eredményes próbálkozások folynak a szer adásának felfüggesztésével a stabil remisszió elérése után [89]. Ilyenkor nagyon szoros obszerváció szükséges (vizelet ellenőrzése stix-szel heti 2-szer) és a reaktiváció első jelére folytatni kell a kezelést. H-faktor-mutációkban és alacsony reziduális GFR mellett azonban a kockázat még így is tetemes.

3.3.3. Az autoimmun aHUS kezelése

Ajánlás 51

Az aHUS autoimmun kórformájában az elsődleges kezelés a plazmacsere és az immunszuppresszív te-

rápia (1B). Életveszélyes extrarenális tünetek esetén, az immunuszuppresszív kezelés mellett eculizumab is adható első vonalú kezelésként (1C) [1].

A hagyományos kezelés intenzív plazmacseréből és immunuszuppresszív (indukció: szteroid, ciklofoszfamid vagy rituximab, fenntartó kezelés: szteroid, mikofenolat-mofetil vagy azatioprin) kezelésként áll. A kezelést úgy kell végezni, hogy az antitesttiter lehetőleg 1000 AU/ml alá csökkenjen. A 8000 AU/ml feletti kiindulási antitesttiter kedvezőtlen prognózist sejtet [90]. Súlyos extrarenális tünetek esetén (azonnali hatása miatt) az első vonalú eculizumab + immunuszuppresszív kezelés lehet az optimális választás [91].

3.3.4. Szupportív terápia

Ajánlás 52

Vörösvérsejt-transzfúzió során választott, fehérvérsejt-depletált készítmény adása javasolt, az indikáció felállításakor az anémia mértékén kívül a klinikai tüneteket is figyelembe kell venni, különösen cardiális érintettség esetén (1C). Renális anémia esetén a transzfúziós igény csökkentésére eritropoetin adása javasolt (2B) [92].

Ajánlás 53

Thrombocyta transzfúzió általában kontraindikált, kivéve az életveszélyes vérzést (1A) [2, 15].

Ajánlás 54

A haemolysis időszakában folsavpótlás szükséges (1C) [10].

Ajánlás 55

A betegeket ajánlott influenza A ellen vakcinálni (1C) [2, 83].

Ajánlás 56

Minden beteget gondozásba kell venni és rendszeresen ellenőrizni kell. A beteget részletesen tájékoztatni kell (ld. csatolt „TTP-HUS betegtájékoztató”) a kórkép természetéről, a relapszus rizikójáról, tüneteiről, a terhesség veszélyeiről és az ezekkel kapcsolatos teendőkről (1D).

A TTP szupportív terápiájánál leírtakon kívül különös gondot kell fordítani az elektrolit-, sav-bázis és folyadék-egyensúly rendezésére, valamint a hypertonia kezelésére. Renális anaemiában eritropoetin adása javasolt a vörösvérsejt-transzfúziós igény csökkentésére. Tekintettel arra, hogy az influenza az egyik leggyakoribb trigger, a betegek influenza A elleni védőoltása javasolt [2, 83].

3.3.5. Vesetranszplantáció indikációja aHUS-betegekben [14]

Ajánlás 57

Atípusos HUS miatti veseátültetés a genetikai háttér tisztázása nélkül nem végezhető (1B) [1, 12, 14].

8. táblázat Plazmacsere atípusos HUS-ban gyermekkorban (a European Pediatric Study Group for HUS ajánlása) [13]

• Plazmacsere indítása 24 órán belül, <u>kivéve</u> :
– más módon kezelendő alternatív diagnózis alapos gyanúja esetén
– kisgyermeknél a vénabiztosítás technikai nehézségei esetén
– enyhe veseérintettség esetén, ha a kockázat/haszon arány kedvezőtlen
• Szubsztitúció: FFP vagy Octaplas plazma
• Volumen: 1,5 plazmavolumen (60–75 ml/kg/alkalom)
• Gyakoriság:
– naponta 1 x 5 napig
– hetente 5 x 2 hétig
– hetente 3 x 2 hétig
– a terápiás hatás kiértékelése a kezelés 33. napján
• Végpont:
– plazmacserével nem kezelhető alternatív diagnózis beigazolódása
– plazmacsere elhagyását igénylő súlyos komplikáció
– hematológiai remisszió*

*A plazmacsere folytatásához a kóreredet tisztázása is szükséges

Ajánlás 58

A vesetranszplantációnál a relapszus rizikóját és a kivédéséhez szükséges profilaktikus terápiát a komplementgenetikai vizsgálat és a kórkép biológiai viselkedése alapján kell meghatározni (1B) [1].

Ajánlás 59

Vesetranszplantációt követő relapszus esetén első vonalú eculizumabkezelés szükséges, mert a plazmacsere a vese szempontjából az irodalmi adatok és a hazai tapasztalat alapján is hatástalan (1B) [1, 93].

Ajánlás 60

Vesetranszplantációhoz profilaktikus kezelésként nagy rizikójú betegeknél eculizumab, közepes rizikójú betegeknél eculizumab vagy plazmacsere javasolható (1C) [83].

Végállapotú veseelégtelenség esetén az atípusos HUS alapdiagnózis hosszú ideig a vesetranszplantáció ellenjavallatát képezte, döntően a kifejezetten rossz grafttúlélési adatok miatt. Atípusos HUS-ban végzett vesetranszplantáció esetén, történeti adatok szerint, a graftvesztés legfőbb oka az alapbetegség visszatérése volt [93]. Ez kialakulhat közvetlenül az átültetést követően is, az idézett tanulmányban jellemzően 6 hónappal a transzplantációt követően lépett fel, és a betegek ~60–90%-át érintette a különböző esetsorozat-leírások adatai szerint [94, 95]. Az aHUS transzplantációt követő visszatérését előre jelző, legfontosabb predikciós tényezőnek az igazolt komplementmutáció bizonyult. A genetikai eltérések

jellemzőinek (érintett gén, mutáció típusa, mutáció funkcionális hatása) összegzése során megállapították, hogy mely variációk állnak kapcsolatban alacsony, közepes vagy magas rekurrenciarizikó-fokozódással [83]. A francia munkacsoport ajánlásának megfelelően, a recidíva közepes vagy magas kockázata esetén profilaktikus terápia szükséges a peritranszplantációs időszakban, melynek módja jelenleg a plazmacsere vagy célzott komplementgátló kezelés lehet (9. táblázat). A magyarországi betegek korábbi kezelése során szerzett tapasztalatok (az összes, jelenleg transzplantációra váró beteg korábban a vese szempontjából plazmarezisztensnek bizonyult) és az irodalmi adatok (poszttranszplantációs időszakban betegségrekurrencia esetén a graftvesztés plazmacserével nem volt kivédhető [93]) alapján, a profilaktikus komplementgátló kezelés (anti-C5-monoklonális antitest-terápia, eculizumab) közepes és magas rekurrenciarizikó esetén (ld. 9. táblázat) indokolt.

A peritranszplantációs plazmakezelést a transzplantáció előtt 12–24 órával kell megkezdeni, és a transzplantáció után legalább 24–48 órán át folytatni. Ritkítása és elhagyása a komplementprofil és az ADAMTS13-aktivitás értékeinek függvényében tervezhető. Javasolt szubsztitúció a peritranszplantációs időszakban: 100% FFP vagy Octaplas.

A profilaktikus peritranszplantációs eculizumabkezelés időtartamát a francia munkacsoport tapasztalataira alapozva (a graftban visszatérő aHUS alapbetegség kockázati aránya a poszttranszplantációs 15–20. hónap között lényegesen lecsökken [93]), minimum 12–18 hónapos kezelés indokolt. A kezelés során az Alkalmazási előírás útmutatása és a francia munkacsoport [96] cikkében leírt protokoll követése szükséges, amennyiben a 0. napon és az 1. napon a beteg teljes dózisban kap eculizumabot (a műtéti stressz és a graft hideg ischaemiás károsodása miatti komplementaktiváció elleni fokozott védelem céljából), majd a 7. napon, azt követően pedig kéthetente kell eculizumabot adni (min. 12–18 hónapon át). A kezelés időtartamát a mutáció típusa, a kórtörténet és a családi anamnézis, a poszttranszplantációs időszak komplementprofil-eredményei és ADAMTS13-aktivitása függvényében kell megtervezni. A kezelés felfüggesztése abban az esetben lehetséges, ha a beteg teljes (hematológiai és renális) remisszióban van, a TMA inaktivitása laboratóriumi mérésekkel (pl. haptoglobin, komplementprofil, ADAMTS13) igazolható, és a terápia felfüggesztését követően kialakuló esetleges relapszus kezelésére az eculizumab folyamatosan rendelkezésre áll.

Transzplantációt követően kialakuló HUS epizód aHUS-nak ítélandó, és első vonalú kezelésére célzott komplementgátló terápia (eculizumab) szükséges (ld. 2. ábra).

Az aHUS talaján kialakult, dialízisfüggő veseelégtelenség esetén, vesetranszplantáció csak a betegség genetikai hátterének, molekuláris etiológiájának feltárása után tervezhető.

3.3.6. Kombinált máj- és veseátültetés aHUS-ban

Mivel a komplementregulátor fehérjét a máj termeli, jelenleg az egyetlen kuratív terápia a kombinált máj- és veseátültetés [97], azonban potenciális szövődményei miatt az eculizumabkezelés korszakában egyre inkább háttérbe szorul.

9. táblázat | Vesetranszplantáció előtti profilaxis [1]

Rekurrencia rizikója	Profilaxis módja
Nagy <ul style="list-style-type: none"> HF- és funkcióyeréses mutációk: BF, C3 Kombinált mutációk, kivéve MCP-kombinációk Korábbi graftvesztés recidíva miatt, függetlenül a genetikai eredménytől 	Eculizumab
Közepes <ul style="list-style-type: none"> Izolált IF-mutáció Kombinált MCP mutáció Ismeretlen funkcionális hatású mutáció 	Eculizumab vagy plazmacsere
Alacsony <ul style="list-style-type: none"> DGKE-mutáció Izolált MCP-mutáció Nincs kimutatható mutáció Alacsony anti-HF-antitest-titer 	Nem szükséges prophylaxis

4. TTP és atípusos HUS a terhesség alatt

A terhesség alatt és a post partum időszakban a TTP és az aHUS nehezen különböztethető meg egymástól, valamint a súlyos pre-eclampsziától és a HELLP szindrómától.

4.1. TTP

Az összes TTP-s epizód kb. 5%-a jelentkezik a terhesség ideje alatt. Ezek 46%-a a 30. terhességi hét után vagy post partum, 54%-a a 30. hét előtt (20–29. hét: 38%; a 20. hét előtt: 15%) kezdődik [98].

A terhesség alatti első TTP-epizódok kb. 2/3-ában az ADAMTS13 enzim genetikai hibája (late-onset-USS, incidencia: 1:200.000 terhesség) nyilvánul meg, leggyakrabban a 3. trimeszterben. Korábban nem ismert beteg terhessége során kezelés nélkül a magzati túlélés mindössze 58%, ez korábban diagnosztizált beteg terhessége során a terhesség kialakulásától kezdve megfelelő gondozással és a 8–10. héten indított rendszeres plazmaterápiával (10 ml/kg FFP kéthetente, majd a 20. héttől hetente + aspirin a 12. hét után) 100%-ra emelhető. A plazmaterápiát úgy kell személyre szabni, hogy a terhes thrombocytaszáma mindvégig a normáltartományban maradjon. A szülés optimális ideje a 36–38. terhességi hét. A betegeket ezt követően is ellenőrizni kell, mivel 20%-uk a továbbiakban is rendszeres plazmapótlásra szorul [98].

Az inhibitoros kórforma jelentkezése leginkább a 2. trimeszterre vagy a post partum időszakra jellemző.

A magzati túlélés 65%. A magzatelhalás mindkét TTP-típusban a 2. trimeszterben a leggyakoribb, ezért a placéntában kialakuló microthrombosisok tehetők felelőssé. A terhesség elején kóros ADAMTS13-aktivitás a relapszus valószínűségét növeli [98], azonban a normális aktivitás sem garantálja a relapsuszmentes terhességet. Ismert inhibitoros TTP-s beteg esetében, az ADAMTS13-aktivitás sorozatos ellenőrzése (havonta) javasolt a terhesség alatt. 10% alá csökkenő aktivitás esetén profilaktikus plazmaterápia (\pm szteroid, + 100 mg aszpirin a 12. hét után) javasolt. A kezelést úgy kell végezni, hogy a beteg thrombocytaszáma a normáltartományban maradjon.

A TTP klinikai relapszusa esetén naponkénti plazmacsere (+ szteroid, aszpirin a 12. hét után, ha a thrombocytaszám >50 G/l) végzendő (5. táblázat), a remiszióig.

Saját (Szt. László kórházi) tapasztalataink alapján a szülés a folyamatot aktiválhatja, még akkor is, ha teljes remissziót értünk el a terhesség alatti kezeléssel. Erre számítani kell, és a beteget a szülést követő időszakban legalább 6 hétig szorosan kell obszerválni, különösen, ha kóros az ADAMTS13 aktivitása. A laborleletek folyamatos romlása esetén a terápiát újra kell indítani a TTP-nél leírtak szerint.

4.2. Atípusos HUS

Az újonnan kialakuló aHUS-epizódok kb. 20%-a a terhesség alatt jelentkezik. A terhességasszociált aHUS (becsült incidencia: 1:25.000 terhesség) 79%-a a postpartum időszakban kezdődik (a szülés utáni 3. naptól a 6. hónapig), de komplementaktiváló tényezők (pl. infekció) hatására hamarabb jelentkezhet (akár az 1. trimeszterben) [99]. Francia adatok [99] alapján a rizikó a 2. terhesség során a legnagyobb (közel 30%) – ennek oka nem ismert. A terhesség alatt jelentkező aHUS-esetek 86%-ában valamilyen komplementmutáció (HF: 48%, IF: 9%, C3: 9%, MCP: 5%, >1 mutáció: 14%, nincs mutáció: 14%) és 57%-uknál homozygota aHUS-rizikó-halotípus (MCP_{ggaac}: 22%, CFHH3: 45%) igazolható. Rendkívül rosszindulatú forma, amely megfelelő kezelés nélkül 1 hónapon belül az esetek 62%-ában, hosszú távon 76%-ban irreverzibilis veseelégtelenséget okoz. Ezzel szemben, a thrombocytopenia a betegek 40%-nál enyhe (>100 G/l) [99]. Terápiaként azonnali plazmacsere és haladéktalanul eculizumabra történő váltás szükséges.

4.3. HELLP szindróma

A HELLP szindróma (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count) az összes terhesség kb. 0,2–0,9%-ában és a súlyos eclampsia 10–20%-ában fordul elő. Incidenciája kb. 1:1000 terhesség. Kezdeté az esetek 70%-ában ante partum (28–36. hét), 30%-ban post partum, a szülést követő 48 órán belül. Ez utóbbi az esetek

80%-ában nem jár megelőző (prae)eclampsiaival. Gyakoribb a fehér bőrű, többször szült, 25 év feletti nőknél [100]. Jelenleg a TMA önálló alcsoportját képezi (1. ábra) – endotheldysfunctio, melynek pathológiai alapját a placenta kóros fejlődése képezi. Újabban a kóros komplementregulációval is kapcsolatba hozták [101, 102]. A komplement szabályozási zavara már önmagában is másfél-kétszeresére növeli a magzati halálozás és az eclampsia rizikóját [99]. A terhesség alatt a TTP-től elkülönítendő, az ADAMTS13-deficiencia, és a 3. trimeszterben a 22 feletti LDH/SGOT [103] arány is a TTP mellett szólnak. A terhesség alatt a HELLP szindróma egyetlen igazoltan hatásos gyógymódja a terhesség befejezése és a placenta eltávolítása. Szülés után a thrombocytaszám 23–29 óra múlva éri el a mélypontját, majd 6–11 nap alatt normalizálódik. A post partum kórfórmában a plazmacsere hatásos lehet [104]. Nem kielégítően javuló esetekben az aHUS irányában is ki kell terjeszteni a vizsgálatokat.

5. Szekunder TTP-HUS kórfórmák

Leggyakoribb kiváltó okaikat a 10. táblázatban foglaltuk össze. Közös jellemzőjük, hogy endothelkárosodás áll a háttérben, azonban ennek pontos molekuláris me-

10. táblázat | Szekunder thromboticus microangiopathiák [1, 10–13, 15, 16, 19]

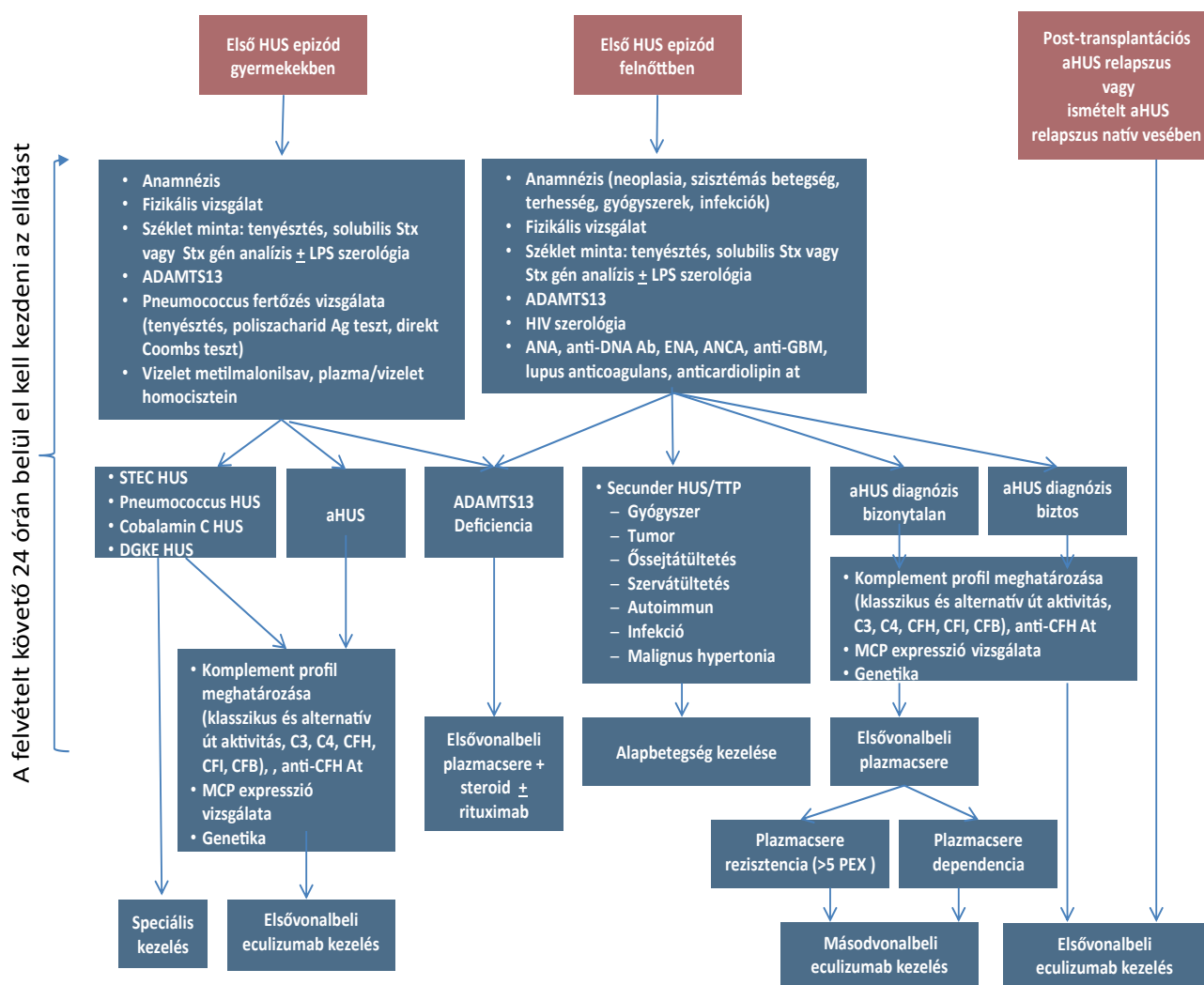
• Gyógyszeres kezelés:
– Kinin
– Tienopiridinek: tiklopidin, klopidogrel
– Kalcineurininhibitorok: ciklosporin, takrolimus
– mTOR-gátlók: szirolimus, everolimusz
– Kemoterápiás szerek: mitomicin B, ciszplatin, bleomicin, gemcitabin stb.
– Angiogenezisgátlók: bevacizumab
– Tirozin-kináz gátlók: szunitinib
– Egyéb szerek: orális fogamzásgátlók, interferon stb.
• Malignus hypertonia (gyakran tünetszegény IgA-nephropathia talaján)
• Disszeminált tumorok, gyakran mucintermelő adenocarcinómák
• Terhesség
• Infekciók:
– vírusinfekciók (pl. HIV, CMV stb.)
– sepsis: baktérium, gomba
• Allogén összejtültetés: graft versus host betegség
• Autoimmun kórképek:
– SLE,
– antifoszfolipid szindróma
– SSC renális krízis
– egyéb kórképek
• Műtétek, fehérjevesztő állapotok, pancreatitis

chanizmusa még nem, vagy nem kellően tisztázott. A klinikai kép gyakrabban HUS, de TTP is lehet. Előfordul tünetszegény megjelenés is, ahol a csekély hematológiai tünetek mellett a progresszív veselégtelenség dominál. Az irodalomban szekunder TTP-HUS/HUS-TTP/TMA vagy HUS-like/TTP-like név is használatos. A kimenetel a kiváltó októl függ, annak kezelése alapvető, és a kezelhetősége általában a kimenetelt is meghatározza. Az ADAMTS13-aktivitás a legtöbb körképben normális, vagy csak mérsékelten csökkent. Ritkán azonban kialakulhat súlyos aktivitáshiány, konzumpció is. Egyes formákban ADAMTS13-inhibitor (pl. tiklopidin, klopidozrel, interferon, terhesség, SLE, APA syndroma, lymphoma, HIV-infekció stb.) is előfordulhat. Ennek tisztázása a kezelés szempontjából perdöntő. Az elégtelen ADAMTS13-aktivitással és -inhibitorral járó esetekben az alapbetegség kezelése mel-

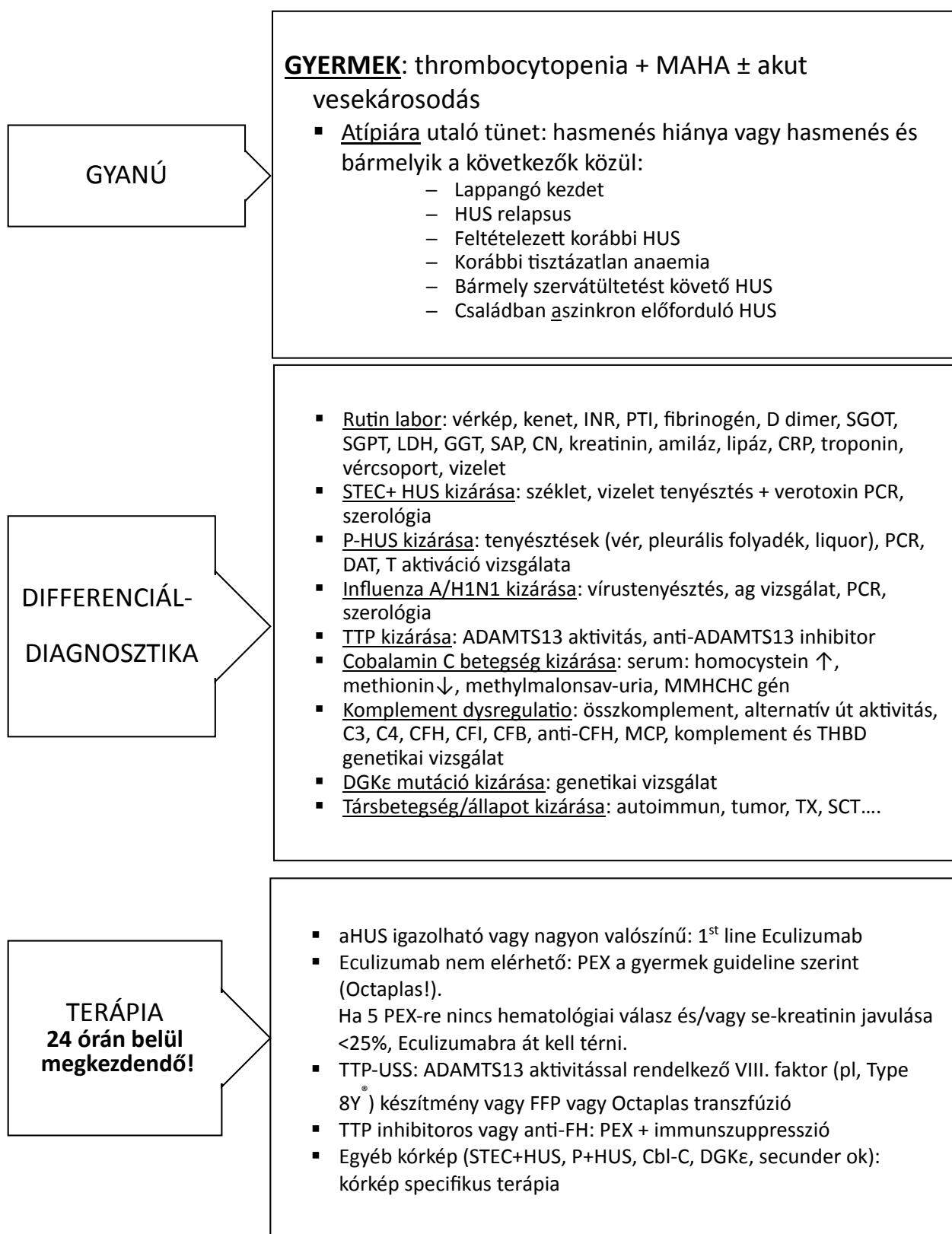
lett plazmacsere és immunszuppresszív kezelés is indokolt, ezeket a TTP-nél leírtak szerint kell végezni. Kifejező ADAMTS13-aktivitás esetén plazmacsere általában nem jön szóba, egyes esetekben viszont az eculizumab hatásos lehet (pl. mitomicin- [105], gemcitabin- [106] asszociált HUS). Súlyosan csökkent, de nem elégtelen aktivitás esetén, a plazmatranszfúzió hatásosságára vonatkozóan nincs megbízható adat. A tumorasszociált kórfarmákban a thrombocyta-VWF interakciót befolyásoló szerektől jelentős előrelépés várható a jövőben.

Az ellátási folyamat algoritmus (ábrák)

A HUS diagnosztikus algoritmus és a lehetséges terápiás módok összefoglalása. A részletes magyarázatot lásd a szövegben. A [83] számú referencia alapján, módosításokkal.



3. ábra | A HUS diagnosztikus algoritmus és a lehetséges terápiás módok összefoglalása. A részletes magyarázatot lásd a szövegben. A [83] számú referencia alapján, módosításokkal



4. ábra | Javasolt ellátási algoritmus gyermek betegek esetében

Gyanú	FELNŐTT: thrombocytopenia + MAHA ± akut vesekárosodás
Vizsgálatok	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Vizsgálat elvégzése:</u> vérkép, kenet, INR, PTI, fibrinogén, D dimer, SGOT, SGPT, LDH, GGT, SAP, CN, kreatinin, amiláz, lipáz, CRP, troponin, vércsoport, vizelet ▪ <u>Minta levétele és tárolása:</u> ACA, LA, RF, dsDNA, ENA, ANCA, anti-GBM, B12, homocystein, hepatitis ABC+HIV szerológia, ADAMTS13, komplement, FACS (MCP) ▪ <u>Társbetegség/állapot kizárása</u> (nem feltétlenül azonnal kell elvégezni): szív echo, koponya, hasi és mellkas CT, széklet, vizelet tenyésztés+verotoxin, terhességi teszt
Transzfúzió	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FFP rendelése ▪ Választott vér rendelés ▪ THR transzfúzió kontraindikált, kivéve: életveszélyes vérzés
Plazmacsere	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 6 órán belül elkezdése ▪ 60 ml/kg dózisban (FFP tartalom >50%) ▪ Naponkénti kezelés
Gyógyszer	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Azonnal methylprednisolon (1 g/nap x3 vagy 1 mg/kg/nap), ha: <ul style="list-style-type: none"> – ADAMTS13 <10% (vagy thr<30 G/l és kreatinin<200 umol/l) ▪ Folsav, PPI, LMWH, ASA (Thr>50 G/l) ± hepatitis ellen oltás
Terápia módosítás	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rituximab off label engedély kérése, ha ADAMTS13<10%, és <ul style="list-style-type: none"> – Nincs terápiás válasz, extrém súlyos állapot, exacerbatio, relapsus ▪ Eculizumabra váltáshoz engedély kérés ha ADAMTS13>=10% <ul style="list-style-type: none"> – A vesefunkció nem javul (kreat ↓ <25%, min 5 PEX után) <u>és</u> – aHUS igazolható (vese szövettan, komplement profil), – Secunder ok kizárható
Terápia vége	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kezelés folytatása CR-ig (thr >150 G/l min 2 egymást követő nap, LDH normális) ▪ ISU fokozatos leépítése ▪ Eculizumab folytatása vese CR-ig vagy maximális javulásig

5. ábra | Javasolt ellátási algoritmus gyermek betegek esetében

VII. JAVASLATOK AZ AJÁNLÁSOK ALKALMAZÁSÁHOZ

1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban

- Referencialaboratóriumok létesítése (Komplement, genetika, ADAMTS13) és a szükséges vizsgálatok finanszírozásának megteremtése a kellően gyors leletközlés érdekében (ezzel csökkenthetővé válik a sürgőstelen plazmacserék száma). A TMA-betegek kivizsgálására alkalmas laboratóriumok listáját az irányelv részeként fel kell sorolni, ezek kijelölése a társszerző szakmai kollégiumok feladata.
- Nemzeti Enterális Referencia Laboratórium (verotoxinvizsgálatok) fenntartása és a szükséges vizsgálatok finanszírozásának megteremtése a kellően gyors leletközlés érdekében (ezzel csökkenthetővé válik a sürgőstelen plazmacserék száma). A verotoxinvizsgálatok elvégzésére alkalmas laboratóriumok listáját az irányelv részeként fel kell sorolni, ezek kijelölése a társszerző szakmai kollégiumok feladata.
- Immunológiai differenciáldiagnosztikai regionális laboratóriumok fenntartása és a szükséges vizsgálatok finanszírozásának megteremtése a kellően gyors leletközlés érdekében (ezzel csökkenthetővé válik a sürgőstelen plazmacserék száma). A TMA-betegek sürgős immunológiai differenciáldiagnosztikájára alkalmas regionális immunológiai laboratóriumok listáját az irányelv részeként fel kell sorolni, ezek kijelölése a társszerző szakmai kollégiumok feladata.
- 7/24 regionális terápiás aferezis-centrumok létrehozása és fenntartása a harmadlagos ellátócentrumokkal együttműködésben. A TMA-betegek ellátására alkalmas centrumok listáját az irányelv részeként fel kell sorolni, ezek kijelölése a társszerző szakmai kollégiumok feladata.
- Biztonságos hemoszubsztitúciós kezeléshez alkalmas vírusinaktivált plazmakészítmények széles körű elérhetősége és finanszírozása igazolt TTP, USS vagy aHUS-betegek részére, ill. minden 18 évnél fiatalabb TMA-beteg részére.
- Az ajánlásokban szereplő indikációkban az immunosuppresszív (pl. rituximab) és a specifikus komplementgátló szerek (pl. eculizumab) széles körű, plazmaterápia indítását követően *egy héten* belüli elérhetősége és finanszírozása.
- Az ajánlásokban szereplő indikációkban az immunosuppresszív (pl. rituximab) és specifikus komplementgátló szerek (pl. eculizumab) széles körű, *azonnali* elérhetősége és finanszírozása minden 18 évnél fiatalabb beteg részére.
- Igazolt atípusos HUS-beteg tervezett vesetranszplantációja előtt (indokolt esetben) preemptív komplementgátló terápia (pl. eculizumab) finanszírozásának

megteremtése graftban visszatérő aHUS-relapszus rizikójának és a graftvesztés megelőzésének céljából.

- A betegek krónikus gondozásával járó költségek finanszírozása (pl. útiköltség-térítés, kontroll vizsgálatok, kivizsgálás transzplantáció előtt stb.)

1.1. Ellátók kompetenciája

(*pl. licenc, akkreditáció stb.*), *kapacitása*

- TTP esetén javasolt, hogy a kezelés irányítását TTP-ben jártas hematológus, míg gyermekkori aHUS esetén a HUS ellátásában tapasztalt nefrológus, felnőtt aHUS-beteg ellátása során a kórképben jártas hematológus és/vagy nefrológus vezesse.
- A korábban TTP-ben vagy HUS-ban szenvedő betegek gondozása és az esetleges terápiamódosítás megítélése szakorvosi feladat.
- A TMA-betegek ellátása és gondozása harmadlagos centrumokban javasolt.

1.2. Speciális tárgyi feltételek,

szervezési kérdések (gátló és elősegítő tényezők és azok megoldása)

- Az irányelv alkalmazása és a TTP-ben és HUS-ban szenvedő betegek akut ellátása csak az adott terápia végzésére akkreditált egészségügyi szolgáltatónál végezhető, ahol az adott betegség ellátásával kapcsolatban kellő tapasztalat áll rendelkezésre.

1.3. Az ellátottak egészségügyi tájékozottsága, szociális és kulturális körülményei, egyéni elvárásai

- A TTP-ben és HUS-ban szenvedő betegek ellátása és gondozása során (a pontos diagnózis, klasszifikáció és etiológia ismeretében) folyamatos betegtájékoztatás, prognózis és kockázatelemzés szükséges, ez szakorvosi feladat, szükség esetén szintén multidiszciplináris team bevonásával. A tájékoztatás során a beteg szociális és kulturális körülményeit, egyéni elvárásait a lehetőségek szerint maximális mértékben szem előtt kell tartani.

1.4. Egyéb feltételek

- Diagnosztikai centrumok nevesítése
- Folyamatos ellátást nyújtó afereziscentrumok nevesítése
- Mobil aferezist nyújtó szolgáltatók nevesítése (lélegeztetett és/vagy nem szállítható beteg átmeneti ellátásához)
- Akut dialízis centrumok nevesítése
- A diagnosztikai vizsgálatok, a specifikus immunosuppresszív és komplementgátló terápiák és a hemoszuppresszív kezelések finanszírozási algoritmusai

2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája

2.1. Betegtájékoztató, oktatási anyagok

1. TTP-HUS betegtájékoztató
2. Alexion – aHUS beteg, ill. szülői információs füzet.

2.2. Tevékenységsorozat elvégzésekor használt ellenőrző kérdőívek, adatlapok

Nincsenek.

2.3. Táblázatok

Ld. szövegben.

2.4. Algoritmuskok

Ld. szövegben.

2.5. Egyéb dokumentumok

Nincsenek.

3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, auditkritériumok

- A TTP- és HUS-incidencia és -prevalencia hazai adatainak változása.
- A TTP- és HUS-betegek morbiditásának (pl. tartós szervkárosodás vagy a munkaképesség megváltozása) és mortalitásának alakulása.
- aHUS-betegek sikeres vesetranszplantációjának alakulása, a vesegraftok átlagos túlélési idejének változása.

VIII. AZ IRÁNYELV FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE

Az irányelv tervezett felülvizsgálati folyamata a lejárattól 6 hónappal kezdődik. A társszerző tagozatok vezetői által kijelölt szakértők és a fejlesztő munkacsoport közösen értékeli a szakirodalom új eredményeit és a hazai ellátási rendszerben bekövetkezett változásokat. Az ellenőrzés egyebek mellett (nem kizárva további pontokat) a következő szempontokra terjed majd ki:

- A TTP és a HUS patogenezisével, tüneteivel, diagnosztikájával, klasszifikációjával, szövődményeivel, terápiájával kapcsolatos szakirodalom áttekintése, értékelése
- A TTP és a HUS ellátásával kapcsolatban publikált újabb nemzetközi irányelvek áttekintése, értékelése
- Speciális kérdések áttekintése: TTP és HUS ellátása terhesség időszakában körül, vesetranszplantáció kérdése HUS-ban

- A specifikus kezelési eljárásokkal (plazmaterápia, célzott immunszuppresszív vagy komplementgátló kezelés, további célzott terápiás eljárások TTP és HUS kezelésére) kapcsolatos változások és azok hazai elérhetőségének áttekintése, értékelése.

Az irányelvfelkészítő munkacsoport rendkívüli felülvizsgálatot kezdeményezhet, amennyiben a szakirodalomban az irányelvvvel kapcsolatos lényeges új tény, evidencia vagy adat kerül publikálásra, illetve ha a hazai ellátókörnyezetben az irányelv alkalmazásával kapcsolatos lényegi változás következik be.

IX. IRODALOM

Hivatkozások jegyzéke:

- [1] Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, Coppo R, Emma F, Johnson S, Karpman D, Landau D, Langman CB, Lapeyraque AL, Licht C, Nester C, Pecoraro C, Riedl M, van de Kar NC, Van de Walle J, Vivarelli M, Fremeaux-Bacchi V, International HUS. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* 2016; 31: 15-39. 10.1007/s00467-015-3076-8.
- [2] Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2011; 6: 60. 10.1186/1750-1172-6-60.
- [3] Petitt RM. Thrombotic thrombocytopenic purpura: a thirty year review. *Semin Thromb Hemost.* 1980; 6: 350-5. 10.1055/s-2007-1005108.
- [4] Scully M, Yarranton H, Liesner R, Cavenagh J, Hunt B, Benjamin S, Bevan D, Mackie I, Machin S. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. *Br J Haematol.* 2008; 142: 819-26. 10.1111/j.1365-2141.2008.07276.x.
- [5] Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharrer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lammle B. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1578-84. 10.1056/NEJM199811263392202.
- [6] Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1585-94. 10.1056/NEJM199811263392203.
- [7] Porta C, Caporali R, Montecucco C. Thrombotic thrombocytopenic purpura and autoimmunity: a tale of shadows and suspects. *Haematologica.* 1999; 84: 260-9.
- [8] Davis AK, Makar RS, Stowell CP, Kuter DJ, Dzik WH. ADAMTS13 binds to CD36: a potential mechanism for platelet and endothelial localization of ADAMTS13. *Transfusion.* 2009; 49: 206-13. 10.1111/j.1537-2995.2008.01978.x.
- [9] Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, Poullin P, Malot S, Vanhille P, Azoulay E, Galicier L, Lemiale V, Mira JP, Ridet C, Rondeau E, Pourrat J, Girault S, Bordessoule D, Saheb S, Ramakers M, Hamidou M, Vernant JP, Guidet B, Wolf M, Veyradier A, French Reference Center for Thrombotic M. Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One.* 2010; 5: e10208. 10.1371/journal.pone.0010208.
- [10] Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, Cheung B, Machin SJ, British Committee for Standards in H. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopa-

- thies. *Br J Haematol.* 2012; 158: 323-35. 10.1111/j.1365-2141.2012.09167.x.
- [11] Scully M, Goodship T. How I treat thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br J Haematol.* 2014; 164: 759-66. 10.1111/bjh.12718.
- [12] Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa M, Grinyo JM, Praga M, Torra R, Vilalta R, Rodriguez de Cordoba S. An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia.* 2013; 33: 27-45. 10.3265/Nefrologia.pre2012.Nov.11781.
- [13] Ariceta G, Besbas N, Johnson S, Karpman D, Landau D, Licht C, Loirat C, Pecoraro C, Taylor CM, Van de Kar N, Vandewalle J, Zimmerhackl LB, European Paediatric Study Group for HUS. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrheanegative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2009; 24: 687-96. 10.1007/s00467-008-0964-1.
- [14] Taylor CM, Machin S, Wigmore SJ, Goodship TH, working party from the Renal Association tBCfSiH, the British Transplantation S. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol.* 2010; 148: 37-47. 10.1111/j.1365-2141.2009.07916.x.
- [15] Salvadori M, Bertoni E. Update on hemolytic uremic syndrome: Diagnostic and therapeutic recommendations. *World J Nephrol.* 2013; 2: 56-76. 10.5527/wjn.v2.i3.56.
- [16] Cataland SR, Wu HM. How I treat: the clinical differentiation and initial treatment of adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* 2014; 123: 2478-84. 10.1182/blood-2013-11-516237.
- [17] Perez-Rodriguez A, Loures E, Rodriguez-Trillo A, Costa-Pinto J, Garcia-Rivero A, Batlle-Lopez A, Batlle J, Lopez-Fernandez MF. Inherited ADAMTS13 deficiency (Upshaw-Schulman syndrome): a short review. *Thromb Res.* 2014; 134: 1171-5. 10.1016/j.thromres.2014.09.004.
- [18] Moatti-Cohen M, Garrec C, Wolf M, Boisseau P, Galicier L, Azoulay E, Stepanian A, Delmas Y, Rondeau E, Bezieau S, Coppo P, Veyradier A, French Reference Center for Thrombotic M. Unexpected frequency of Upshaw-Schulman syndrome in pregnancy-onset thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2012; 119: 5888-97. 10.1182/blood-2012-02-408914.
- [19] Sarode R, Bandarenko N, Brecher ME, Kiss JE, Marques MB, Szczepiorkowski ZM, Winters JL. Thrombotic thrombocytopenic purpura: 2012 American Society for Apheresis (ASFA) consensus conference on classification, diagnosis, management, and future research. *J Clin Apher.* 2014; 29: 148-67. 10.1002/jca.21302.
- [20] Rock G, Clark WF, Anderson D, Benny B, Sutton D, Leblond P, Sternbach M, Sontrop J, Members of the Canadian Apheresis G. ADAMTS-13 may not predict disease or outcome in patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb Res.* 2013; 131: 308-12. 10.1016/j.thromres.2013.01.024.
- [21] George JN. Measuring ADAMTS13 activity in patients with suspected thrombotic thrombocytopenic purpura: when, how, and why? *Transfusion.* 2015; 55: 11-3. 10.1111/trf.12885.
- [22] Mannucci PM, Franchini M. Advantages and limits of ADAMTS13 testing in the prognostic assessment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Presse Med.* 2012; 41: e157-e62. 10.1016/j.lpm.2011.10.025.
- [23] Peyvandi F, Rossio R, Ferrari B, Lotta LA, Pontiggia S, Ghiringhelli Borsa N, Pizzuti M, Donadelli R, Piras R, Cugno M, Noris M. Thrombotic microangiopathy without renal involvement: two novel mutations in complement-regulator genes. *J Thromb Haemost.* 2016; 14: 340-5. 10.1111/jth.13210.
- [24] Scully M, Gattens M, Khair K, Liesner R. The use of intermediate purity factor VIII concentrate BPL 8Y as prophylaxis and treatment in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2006; 135: 101-4. 10.1111/j.1365-2141.2006.06264.x.
- [25] Naik S, Mahoney DH. Successful treatment of congenital TTP by a novel approach using plasma-derived factor VIII. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2013; 35: 551-3. 10.1097/MPH.0b013e3182755c38.
- [26] Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med.* 1991; 325: 393-7. 10.1056/NEJM199108083250604.
- [27] Henon P. Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Results of a multicenter randomized clinical study. *Presse Med.* 1991; 20: 1761-7.
- [28] Clark WF, Forzley BR, Sontrop JM, Kadri A, Moist LM, Suri RS, Salvadori MI, Garg AX. TTP/HUS: observational studies generate hypotheses that lead to randomized controlled trials. *Kidney Int Suppl.* 2009; S50-1. 10.1038/ki.2008.621.
- [29] Nguyen L, Li X, Duvall D, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Twice-daily plasma exchange for patients with refractory thrombotic thrombocytopenic purpura: the experience of the Oklahoma Registry, 1989 through 2006. *Transfusion.* 2008; 48: 349-57. 10.1111/j.1537-2995.2007.01530.x.
- [30] Paglialonga F, Schmitt CP, Shroff R, Vondrak K, Aufrecht C, Watson AR, Ariceta G, Fischbach M, Klaus G, Holta T, Bakaloglu SA, Zurawska A, Jankauskiene A, Vande Walle J, Schaefer B, Wright E, Connell R, Edefonti A. Indications, technique, and outcome of therapeutic apheresis in European pediatric nephrology units. *Pediatr Nephrol.* 2015; 30: 103-11. 10.1007/s00467-014-2907-3.
- [31] Scully M, Longair I, Flynn M, Berryman J, Machin SJ. Cryosupernatant and solvent detergent fresh-frozen plasma (Octaplas) usage at a single centre in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *Vox Sang.* 2007; 93: 154-8. 10.1111/j.1423-0410.2007.00940.x.
- [32] Mintz PD, Neff A, MacKenzie M, Goodnough LT, Hillyer C, Kessler C, McCrae K, Menitove JE, Skikne BS, Damon L, Lopez-Plaza I, Rouault C, Crookston KP, Benjamin RJ, George J, Lin JS, Corash L, Conlan MG. A randomized, controlled Phase III trial of therapeutic plasma exchange with fresh-frozen plasma (FFP) prepared with amotosalen and ultraviolet A light compared to untreated FFP in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion.* 2006; 46: 1693-704. 10.1111/j.1537-2995.2006.00959.x.
- [33] del Rio-Garma J, Alvarez-Larran A, Martinez C, Muncunill J, Castella D, de la Rubia J, Zamora C, Corral M, Viejo A, Pena F, Rodriguez-Vicente P, Contreras E, Arbona C, Ramirez C, Garcia-Erce JA, Alegre A, Mateo J, Pereira A. Methylene blue-photoinactivated plasma versus quarantine fresh frozen plasma in thrombotic thrombocytopenic purpura: a multicentric, prospective cohort study. *Br J Haematol.* 2008; 143: 39-45. 10.1111/j.1365-2141.2008.07292.x.
- [34] Bandarenko N, Brecher ME. United States Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Apheresis Study Group (US TTP ASG): multicenter survey and retrospective analysis of current efficacy of the therapeutic plasma exchange. *J Clin Apher.* 1998; 13: 133-41.
- [35] Balduini CL, Gugliotta L, Luppi M, Laurenti L, Klersy C, Piersca C, Quintini G, Iuliano F, Re R, Spedini P, Vianelli N, Zaccaria A, Pogliani EM, Musso R, Bobbio Pallavicini E, Quarta G, Galieni P, Fragasso A, Casella G, Noris P, Ascari E, Italian TTPSG. High versus standard dose methylprednisolone in the acute phase of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a randomized study. *Ann Hematol.* 2010; 89: 591-6. 10.1007/s00277-009-0877-5.
- [36] Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS. Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med.* 1991; 325: 398-403. 10.1056/NEJM199108083250605.
- [37] Rojnuckarin P, Watanaboonyongcharoen P, Akkawat B, Intragumtornchai T. The role of pulse dexamethasone in acquired

- idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* 2006; 4: 1148-50. 10.1111/j.1538-7836.2006.01879.x.
- [38] Westwood JP, Webster H, McGuckin S, McDonald V, Machin SJ, Scully M. Rituximab for thrombotic thrombocytopenic purpura: benefit of early administration during acute episodes and use of prophylaxis to prevent relapse. *J Thromb Haemost.* 2013; 11: 481-90. 10.1111/jth.12114.
- [39] Tsutsumi Y, Yamamoto Y, Ito S, Ohigashi H, Shiratori S, Naruse H, Teshima T. Hepatitis B virus reactivation with a rituximab-containing regimen. *World J Hepatol.* 2015; 7: 2344-51. 10.4254/wjh.v7.i21.2344.
- [40] Yazici O, Sendur MA, Aksoy S. Hepatitis C virus reactivation in cancer patients in the era of targeted therapies. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 6716-24. 10.3748/wjg.v20.i22.6716.
- [41] Rituximab, alkalmazási előirat.
- [42] Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2011; 118: 1746-53. 10.1182/blood-2011-03-341131.
- [43] Froissart A, Buffet M, Veyradier A, Poullin P, Provot F, Malot S, Schwarzwinger M, Galicier L, Vanhille P, Vernant JP, Bordessoule D, Guidet B, Azoulay E, Mariotte E, Rondeau E, Mira JP, Wynckel A, Clabault K, Choukroun G, Presne C, Pourrat J, Hamidou M, Coppo P, French Thrombotic Microangiopathies Reference C. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med.* 2012; 40: 104-11. 10.1097/CCM.0b013e31822e9d66.
- [44] Beloncle F, Buffet M, Coindre JP, Munoz-Bongrand N, Malot S, Pene F, Mira JP, Galicier L, Guidet B, Baudel JL, Subra JF, Tanguy-Schmidt A, Pourrat J, Azoulay E, Veyradier A, Coppo P, Thrombotic Microangiopathies Reference C. Splenectomy and/or cyclophosphamide as salvage therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura: the French TMA Reference Center experience. *Transfusion.* 2012; 52: 2436-44. 10.1111/j.1537-2995.2012.03578.x.
- [45] Bobbio-Pallavicini E, Gugliotta L, Centurioni R, Porta C, Vianelli N, Billio A, Tacconi F, Ascari E. Antiplatelet agents in thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Results of a randomized multicenter trial by the Italian Cooperative Group for TTP. *Haematologica.* 1997; 82: 429-35.
- [46] Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, Croockewit AJ, van der Holt B, de Wolf JT, Lowenberg B, Brand A. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2005; 130: 768-76. 10.1111/j.1365-2141.2005.05681.x.
- [47] Goel R, Ness PM, Takemoto CM, Krishnamurti L, King KE, Tobian AA. Platelet transfusions in platelet consumptive disorders are associated with arterial thrombosis and in-hospital mortality. *Blood.* 2015; 125: 1470-6. 10.1182/blood-2014-10-605493.
- [48] Otrrock ZK, Liu C, Grossman BJ. Platelet transfusion in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Vox Sang.* 2015; 109: 168-72. 10.1111/vox.12274.
- [49] Hie M, Gay J, Galicier L, Provot F, Presne C, Poullin P, Bonmarchand G, Wynckel A, Benhamou Y, Vanhille P, Servais A, Bordessoule D, Coindre JP, Hamidou M, Vernant JP, Veyradier A, Coppo P, French Thrombotic Microangiopathies Reference C. Preemptive rituximab infusions after remission efficiently prevent relapses in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2014; 124: 204-10. 10.1182/blood-2014-01-550244.
- [50] Lim W, Vesely SK, George JN. The role of rituximab in the management of patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2015; 125: 1526-31. 10.1182/blood-2014-10-559211.
- [51] Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, Valsecchi C, Canciani MT, Fabris F, Zver S, Reti M, Mikovic D, Karimi M, Giuffrida G, Laurenti L, Mannucci PM. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica.* 2008; 93: 232-9. 10.3324/haematol.11739.
- [52] Tsai HM. The kidney in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Minerva Med.* 2007; 98: 731-47.
- [53] Han B, Page EE, Stewart LM, Deford CC, Scott JG, Schwartz LH, Perdue JJ, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Depression and cognitive impairment following recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol.* 2015; 90: 709-14. 10.1002/ajh.24060.
- [54] Jian C, Xiao J, Gong L, Skipwith CG, Jin SY, Kwaan HC, Zheng XL. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2012; 119: 3836-43. 10.1182/blood-2011-12-399501.
- [55] Cataland SR, Peyvandi F, Mannucci PM, Lammle B, Kremer Hovinga JA, Machin SJ, Scully M, Rock G, Gilbert JC, Yang S, Wu H, Jilma B, Knoebl P. Initial experience from a double-blind, placebo-controlled, clinical outcome study of ARC1779 in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol.* 2012; 87: 430-2. 10.1002/ajh.23106.
- [56] Feys HB, Roodt J, Vandeputte N, Pareyn I, Mottl H, Hou S, Lamprecht S, Van Rensburg WJ, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. Inhibition of von Willebrand factor-platelet glycoprotein Ib interaction prevents and reverses symptoms of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in baboons. *Blood.* 2012; 120: 3611-4. 10.1182/blood-2012-04-421248.
- [57] Holz JB. The TITAN trial—assessing the efficacy and safety of an anti-von Willebrand factor Nanobody in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci.* 2012; 46: 343-6. 10.1016/j.transci.2012.03.027.
- [58] Rottenstreich A, Hochberg-Klein S, Rund D, Kalish Y. The role of N-acetylcysteine in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Thrombolysis.* 2016; 41: 678-83. 10.1007/s11239-015-1259-6.
- [59] Yates S, Matevosyan K, Rutherford C, Shen YM, Sarode R. Bortezomib for chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report. *Transfusion.* 2014; 54: 2064-7. 10.1111/trf.12614.
- [60] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004; 8: R204-12. 10.1186/cc2872.
- [61] Keir LS, Marks SD, Kim JJ. Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies. *Drug Des Devel Ther.* 2012; 6: 195-208. 10.2147/DDDT.S25757.
- [62] Rock G, Clark W, Sternbach M, Kolajova M, McLaine P. Haemolytic uraemic syndrome is an immune-mediated disease: role of anti-CD36 antibodies. *Br J Haematol.* 2005; 131: 247-52. 10.1111/j.1365-2141.2005.05761.x.
- [63] Kielstein JT, Beutel G, Fleig S, Steinhoff J, Meyer TN, Hafer C, Kuhlmann U, Bramstedt J, Panzer U, Vischedyk M, Busch V, Ries W, Mitzner S, Mees S, Stracke S, Nurnberger J, Gerke P, Wiesner M, Sucke B, Abu-Tair M, Kribben A, Klaus N, Schindler R, Merkel F, Schnatter S, Dorresteijn EM, Samuelsson O, Brunkhorst R, Collaborators of the DS-HUSr. Best supportive care and therapeutic plasma exchange with or without eculizumab in Shiga-toxin-producing *E. coli* O104:H4 induced haemolytic-uraemic syndrome: an analysis of the German STEC-HUS registry. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27: 3807-15. 10.1093/ndt/gfs394.

- [64] Dundas S, Todd WT, Stewart AI, Murdoch PS, Chaudhuri AK, Hutchinson SJ. The central Scotland *Escherichia coli* O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 923-31. 10.1086/322598.
- [65] Menne J, Nitschke M, Stingle R, Abu-Tair M, Beneke J, Bramstedt J, Bremer JP, Brunkhorst R, Busch V, Dengler R, Deuschl G, Fellermann K, Fickenscher H, Gerigk C, Goettsche A, Greeve J, Hafer C, Hagenmuller F, Haller H, Herget-Rosenthal S, Hertenstein B, Hofmann C, Lang M, Kielstein JT, Klostermeier UC, Knobloch J, Kuehbach M, Kunzendorf U, Lehnert H, Manns MP, Menne TF, Meyer TN, Michael C, Munte T, Neumann-Grutzeck C, Nuernberger J, Pavenstaedt H, Ramazan L, Renders L, Repenthin J, Ries W, Rohr A, Rump LC, Samuelsson O, Sayk F, Schmidt BM, Schnatter S, Schocklmann H, Schreiber S, von Seydewitz CU, Steinhoff J, Stracke S, Suerbaum S, van de Loo A, Vischedyk M, Weissenborn K, Wellhoner P, Wiesner M, Zeissig S, Buning J, Schiffer M, Kuehbach T, consortium E-H. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ*. 2012; 345: e4565. 10.1136/bmj.e4565.
- [66] Kemper MJ. Outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by *E. coli* O104:H4 in Germany: a pediatric perspective. *Pediatr Nephrol*. 2012; 27: 161-4. 10.1007/s00467-011-2067-7.
- [67] Loos S, Ahlenstiel T, Kranz B, Staude H, Pape L, Hartel C, Vester U, Buchtala L, Benz K, Hoppe B, Beringer O, Krause M, Muller D, Pohl M, Lemke J, Hillebrand G, Kreuzer M, Konig J, Wigger M, Konrad M, Haffner D, Oh J, Kemper MJ. An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 hemolytic uremic syndrome in Germany: presentation and short-term outcome in children. *Clin Infect Dis*. 2012; 55: 753-9. 10.1093/cid/cis531.
- [68] Spinale JM, Ruebner RL, Kaplan BS, Copelovitch L. Update on *Streptococcus pneumoniae* associated hemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Pediatr*. 2013; 25: 203-8. 10.1097/MOP.0b013e32835d7f2c.
- [69] Szilagyi A, Kiss N, Bereczki C, Talosi G, Racz K, Turi S, Gyorko Z, Simon E, Horvath E, Kelen K, Reusz GS, Szabo AJ, Tulassay T, Prohaszka Z. The role of complement in *Streptococcus pneumoniae*-associated haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2013; 28: 2237-45. 10.1093/ndt/gft198.
- [70] Petras ML, Dunbar NM, Filiano JJ, Braga MS, Chobanian MC, Szczepiorkowski ZM. Therapeutic plasma exchange in *Streptococcus pneumoniae*-associated hemolytic uremic syndrome: a case report. *J Clin Apher*. 2012; 27: 212-4. 10.1002/jca.21208.
- [71] Hopkins CK, Yuan S, Lu Q, Ziman A, Goldfinger D. A severe case of atypical hemolytic uremic syndrome associated with pneumococcal infection and T activation treated successfully with plasma exchange. *Transfusion*. 2008; 48: 2448-52. 10.1111/j.1537-2995.2008.01871.x.
- [72] Waters AM, Kerecuk L, Luk D, Haq MR, Fitzpatrick MM, Gilbert RD, Inward C, Jones C, Pichon B, Reid C, Slack MP, Van't Hoff W, Dillon MJ, Taylor CM, Tullus K. Hemolytic uremic syndrome associated with invasive pneumococcal disease: the United Kingdom experience. *J Pediatr*. 2007; 151: 140-4. 10.1016/j.jpeds.2007.03.055.
- [73] Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, Moulin B, Servais A, Provot F, Rostaing L, Burtey S, Niaudet P, Deschenes G, Lebranchu Y, Zuber J, Loirat C. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013; 8: 554-62. 10.2215/CJN.04760512.
- [74] Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, Daina E, Fenili C, Castelletti F, Sorosina A, Piras R, Donadelli R, Maranta R, van der Meer I, Conway EM, Zipfel PF, Goodship TH, Remuzzi G. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5: 1844-59. 10.2215/CJN.02210310.
- [75] Bu F, Maga T, Meyer NC, Wang K, Thomas CP, Nester CM, Smith RJ. Comprehensive genetic analysis of complement and coagulation genes in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2014; 25: 55-64. 10.1681/ASN.2013050453.
- [76] Blanc C, Togarsimalemath SK, Chauvet S, Le Quintrec M, Moulin B, Buchler M, Jokiranta TS, Roumenina LT, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA. Anti-factor H autoantibodies in C3 glomerulopathies and in atypical hemolytic uremic syndrome: one target, two diseases. *J Immunol*. 2015; 194: 5129-38. 10.4049/jimmunol.1402770.
- [77] Komhoff M, Roofthoof MT, Westra D, Teertstra TK, Losito A, van de Kar NC, Berger RM. Combined pulmonary hypertension and renal thrombotic microangiopathy in cobalamin C deficiency. *Pediatrics*. 2013; 132: e540-4. 10.1542/peds.2012-2581.
- [78] Cornec-Le Gall E, Delmas Y, De Parscau L, Doucet L, Ogier H, Benoist JF, Fremeaux-Bacchi V, Le Meur Y. Adult-onset eculizumab-resistant hemolytic uremic syndrome associated with cobalamin C deficiency. *Am J Kidney Dis*. 2014; 63: 119-23. 10.1053/j.ajkd.2013.08.031.
- [79] Tadakamalla AK, Talluri SK, Besur S. Pseudo-thrombotic thrombocytopenic purpura: A rare presentation of pernicious anemia. *N Am J Med Sci*. 2011; 3: 472-4. 10.4297/najms.2011.3472.
- [80] Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M, Fakhouri F, Taque S, Nobili F, Martinez F, Ji W, Overton JD, Mane SM, Nurnberg G, Altmuller J, Thiele H, Morin D, Deschenes G, Baudouin V, Llanas B, Collard L, Majid MA, Simkova E, Nurnberg P, Rioux-Leclerc N, Moeckel GW, Gubler MC, Hwa J, Loirat C, Lifton RP. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet*. 2013; 45: 531-6. 10.1038/ng.2590.
- [81] Sanchez Chinchilla D, Pinto S, Hoppe B, Adragna M, Lopez L, Justa Roldan ML, Pena A, Lopez Trascasa M, Sanchez-Corral P, Rodriguez de Cordoba S. Complement mutations in diacylglycerol kinase-epsilon-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9: 1611-9. 10.2215/CJN.01640214.
- [82] Prohaszka Z. A hemolitikus urémiás szindróma és a trombotikus trombocytopeniás purpura molekuláris szemléletű klasszifikációja és diagnosztikájuk aktuális kérdései. *Orvosi Hetilap*. 2008; 149: 1251-61.
- [83] Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V, French Study Group for a HCG. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol*. 2012; 8: 643-57. 10.1038/nrneph.2012.214.
- [84] Johnson S, Stojanovic J, Ariceta G, Bitzan M, Besbas N, Frieling M, Karpman D, Landau D, Langman C, Licht C, Pecoraro C, Riedl M, Siomou E, van de Kar N, Walle JV, Loirat C, Taylor CM. An audit analysis of a guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea negative (atypical) hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2014; 29: 1967-78. 10.1007/s00467-014-2817-4.
- [85] Rock G, Shumak K, Kelton J, Blanchette VS, Buskard N, Nair R, Spasoff R. Thrombotic thrombocytopenic purpura: outcome in 24 patients with renal impairment treated with plasma exchange. *Canadian Apheresis Study Group*. *Transfusion*. 1992; 32: 710-4.
- [86] Eculizumab, alkalmazási előirat.
- [87] Hallstensen RF, Bergseth G, Foss S, Jaeger S, Gedde-Dahl T, Holt J, Christiansen D, Lau C, Brekke OL, Armstrong E, Stefanovic V, Andersen JT, Sandlie I, Mollnes TE. Eculizumab treatment during pregnancy does not affect the complement system activity of the newborn. *Immunobiology*. 2015; 220: 452-9. 10.1016/j.imbio.2014.11.003.
- [88] Sevinc M, Basturk T, Sahutoglu T, Sakaci T, Koc Y, Ahbap E, Akgol C, Kara E, Brocklebank V, Goodship TH, Kavanagh D, Unsal A. Plasma resistant atypical hemolytic uremic syndrome

- associated with a CFH mutation treated with eculizumab: a case report. *J Med Case Rep.* 2015; 9: 92. 10.1186/s13256-015-0575-y.
- [89] Ardissino G, Testa S, Possenti I, Tel F, Paglialonga F, Salardi S, Tedeschi S, Belingheri M, Cugno M. Discontinuation of eculizumab maintenance treatment for atypical hemolytic uremic syndrome: a report of 10 cases. *Am J Kidney Dis.* 2014; 64: 633-7. 10.1053/j.ajkd.2014.01.434.
- [90] Sinha A, Gulati A, Saini S, Blanc C, Gupta A, Gurjar BS, Saini H, Kotresh ST, Ali U, Bhatia D, Ohri A, Kumar M, Agarwal I, Gulati S, Anand K, Vijayakumar M, Sinha R, Sethi S, Salmons M, George A, Bal V, Singh G, Dinda AK, Hari P, Rath S, Dragon-Durey MA, Bagga A, Indian HUSR. Prompt plasma exchanges and immunosuppressive treatment improves the outcomes of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome in children. *Kidney Int.* 2014; 85: 1151-60. 10.1038/ki.2013.373.
- [91] Diamante Chiodini B, Davin JC, Corazza F, Khaldi K, Dahan K, Ismaili K, Adams B. Eculizumab in anti-factor h antibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics.* 2014; 133: e1764-8. 10.1542/peds.2013-1594.
- [92] Pape L, Ahlenstiel T, Kreuzer M, Drube J, Froede K, Franke D, Ehrlich JH, Haubitz M. Early erythropoietin reduced the need for red blood cell transfusion in childhood hemolytic uremic syndrome: a randomized prospective pilot trial. *Pediatr Nephrol.* 2009; 24: 1061-4. 10.1007/s00467-008-1087-4.
- [93] Le Quintrec M, Zuber J, Moulin B, Kamar N, Jablonski M, Lionet A, Chatelet V, Mousson C, Mourad G, Bridoux F, Cassuto E, Loirat C, Rondeau E, Delahousse M, Fremeaux-Bacchi V. Complement genes strongly predict recurrence and graft outcome in adult renal transplant recipients with atypical hemolytic and uremic syndrome. *Am J Transplant.* 2013; 13: 663-75. 10.1111/ajt.12077.
- [94] Bresin E, Daina E, Noris M, Castelletti F, Stefanov R, Hill P, Goodship TH, Remuzzi G, International Registry of R, Familial HT. Outcome of renal transplantation in patients with non-Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: prognostic significance of genetic background. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006; 1: 88-99. 10.2215/CJN.00050505.
- [95] Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, Boudailliez B, Bouissou F, Deschenes G, Gie S, Tsimaratos M, Fischbach M, Morin D, Nivet H, Alberti C, Loirat C, French Society of Pediatric N. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18: 2392-400. 10.1681/ASN.2006080811.
- [96] Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, Heyne N, Ardissino G, Chatelet V, Noel LH, Hourmant M, Niaudet P, Fremeaux-Bacchi V, Rondeau E, Legendre C, Loirat C, French Study Group for Atypical HUS. Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant.* 2012; 12: 3337-54. 10.1111/j.1600-6143.2012.04252.x.
- [97] Saland JM, Ruggenenti P, Remuzzi G, Consensus Study G. Liver-kidney transplantation to cure atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20: 940-9. 10.1681/ASN.2008080906.
- [98] Scully M, Thomas M, Underwood M, Watson H, Langley K, Camilleri RS, Clark A, Creagh D, Rayment R, McDonald V, Roy A, Evans G, McGuckin S, Ni Ainle F, Maclean R, Lester W, Nash M, Scott R, P OB, collaborators of the UKTTPR. Thrombotic thrombocytopenic purpura and pregnancy: presentation, management, and subsequent pregnancy outcomes. *Blood.* 2014; 124: 211-9. 10.1182/blood-2014-02-553131.
- [99] Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, Sallee M, Caillard S, Couzi L, Essig M, Ribes D, Dragon-Durey MA, Bridoux F, Rondeau E, Fremeaux-Bacchi V. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 859-67. 10.1681/ASN.2009070706.
- [100] Satpathy Hemant K SC, Donald Frey. HELLP syndrome. *J Obstet Gynecol India.* 2009; 59:1: 30-40.
- [101] Fakhouri F, Jablonski M, Lepercq J, Blouin J, Benachi A, Hourmant M, Pirson Y, Durrbach A, Grunfeld JP, Knebelmann B, Fremeaux-Bacchi V. Factor H, membrane cofactor protein, and factor I mutations in patients with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count syndrome. *Blood.* 2008; 112: 4542-5. 10.1182/blood-2008-03-144691.
- [102] Vaught AJ, Gavrilaki E, Hueppchen N, Blakemore K, Yuan X, Seifert SM, York S, Brodsky RA. Direct evidence of complement activation in HELLP syndrome: A link to atypical hemolytic uremic syndrome. *Exp Hematol.* 2016. 10.1016/j.exphem.2016.01.005.
- [103] Keiser SD, Boyd KW, Rehberg JF, Elkins S, Owens MY, Sune-sara I, Martin JN, Jr. A high LDH to AST ratio helps to differentiate pregnancy-associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) from HELLP syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012; 25: 1059-63. 10.3109/14767058.2011.619603.
- [104] Erkurt MA, Berber I, Berktaş HB, Kuku I, Kaya E, Koroglu M, Nizam I, Bakirhan FA, Ozgul M. A life-saving therapy in Class I HELLP syndrome: Therapeutic plasma exchange. *Transfus Apher Sci.* 2015; 52: 194-8. 10.1016/j.transci.2014.12.026.
- [105] Faguer S, Huart A, Fremeaux-Bacchi V, Ribes D, Chauveau D. Eculizumab and drug-induced haemolytic-uraemic syndrome. *Clin Kidney J.* 2013; 6: 484-5. 10.1093/ckj/sft078.
- [106] Al Ustwani O, Lohr J, Dy G, Levea C, Connolly G, Arora P, Iyer R. Eculizumab therapy for gemcitabine induced hemolytic uremic syndrome: case series and concise review. *J Gastrointest Oncol.* 2014; 5: E30-3. 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.042.

X. A FEJLESZTÉS MÓDSZERE

(A kapcsolódó dokumentumokat csatolni szükséges a tervezethez.)

1. A fejlesztőcsoport megalakulása, a fejlesztési folyamat és a feladatok dokumentálásának módja

Az egészségügyi szakmai kollégium elnöke felkérte a témában érintett tagozatok delegált tagjait, hogy kezdjék meg az irányelvfejlesztést. A fejlesztőcsoport a megalakulást követően meghatározta az egyes elvégzendő feladatokat. Az irányelv kialakítása a tagok egyéni munkáján és többszöri konzultáción keresztül valósult meg.

2. Irodalomkeresés, szelekció

Az irodalomkeresés alapvetően a PubMed (ncbi.nlm.nih.gov) adatbázis alapján történt (keresés lezárása 2016. 03. 31.) a következő kulcsszavak alapján: HUS, TTP, USS, TMA, HELLP, preeclampsia. A keresés során megtalált, publikált nemzetközi irányelvek referencialistájának elemzése szintén az irodalomkeresés részét képezte.

3. A felhasznált bizonyítékok erősségének, hiányosságainak leírása (kritikus értékelés, „bizonyíték vagy ajánlás mátrix”), bizonyítékok szintjének meghatározási módja

A bizonyítékok szintjére használt besorolási rendszert a fejlesztőcsoport a GRADE nómenklátúra alapján dolgozta ki [<http://www.gradeworkinggroup.org/index.htm>].

A szövegben a fejlesztőcsoport a tudományos bizonyítékok osztályozására, azok hitelességének és tudományos alátámasztottságának besorolását a szöveges leírás után tett zárójelben jelölte, pl.: (A).

4. Az ajánlások kialakításának módszere

Az irányelvben szereplő ajánlások minősítése a bizonyíték-háttér alapján történt.

Az ajánlások rangsorolására alkalmazott rendszert a fejlesztőcsoport a GRADE nómenklátúra alapján dolgozta ki [<http://www.gradeworkinggroup.org/index.htm>].

A szövegben a fejlesztőcsoport az ajánlások besorolását a szöveges leírás után tett zárójelben jelölte, pl.: (1).

Amennyiben az adaptált irányelvek eltérő besorolási rendszert használtak, a hazai fejlesztőcsoport a BCSH-irányelv besorolási rendszerét vette át, és az egyéb adaptált irányelvből származó ajánlásokat is ennek alapján

sorolták be. Amennyiben az adaptált irányelvek egy-egy ajánlásra eltérő fokozatot állapítanak meg, a fejlesztőcsoport az alacsonyabb fokozatú ajánlásbesorolást alkalmazza.

Jelen irányelv hatókörének megfelelő ajánlásai, azok hazai ellátókörnyezetre (ellátott populáció jellemzői, preferenciái, egészségkultúrája és költségterhelhetősége, jogszabályi környezet) történő adaptálásával kerültek átvetélre.

5. A véleményezés módszere

Az irányelv szakmai tartalmának összeállítását követően, a kapcsolattartó megküldte a dokumentumot a korábban véleményezési jogot kérő és a fejlesztőcsoport véleményezői felkérését elfogadó Szakmai Tagozatoknak. A visszaérkező javaslatok beillesztésre kerültek az irányelv szövegébe, vagy azok alapján módosításra került a dokumentum szerkezete, amennyiben az irányelvfejlesztők egyetértettek azok tartalmával.

6. A független szakértői véleményezés módszere

Független szakértői véleményezés nem történt.

XI. MELLÉKLET

I. Alkalmazást segítő dokumentumok

1.1. Betegtájékoztató, oktatási anyagok

1. TTP-HUS betegájékoztató

Thromboticus microangiopathiák (TMA)

Hasonló tüneteket és laboreltéréseket mutató kórképek összefoglaló neve. A patológiai alapot a kóros vérlemezke-aktiváció és -összecsapzódás (aggregáció) képezi, amely a kisereken kialakuló rögzítés révén az érintett területek vérellátási zavarát eredményezi következményes szervi funkciócsökkenéssel. A szervek károsodásának kiterjedtsége, elhelyezkedése, valamint a folyamatot kiváltó molekuláris mechanizmus az egyes kórképekben különböző.

1. A leggyakoribb laboratóriumi eltérések

- *Thrombocytopenia* (alacsony vérlemezkeshám): a folyamatos aktiváció, összecsapzódás során a vérlemezkék felhasználódnak. Ha a csontvelői termelés nem képes ezzel lépést tartani, thrombocytopenia alakul ki. Ennek mértéke az egyes kórképekben eltérő lehet.
- *Microangiopathiás haemolyticus anaemia*: a kisereken kialakuló rögzítés következtében a vörösvérsejtek mechanikusan károsodnak, szétrohadnak (fragmentocyták) és a vérpályán belül szétesnek, feloldódnak (haemolysis). Ha a termelés nem képes ezzel lépést tartani, akkor vérszegénység alakul ki.
- *Magas LDH* (laktátdehidrogenáz): hemolysissel (vörösvérsejt-szétesés), szövetszéteséssel járó folyamatokban szintje jelentősen emelkedik.
- *Alacsony szérumbaptoglobin*: az érpályán belüli haemolysis során felhasználódó fehérje, melynek élettani funkciója a széteső vörösvérsejtekből származó vérfesték (hemoglobin) megkötése. Alacsony szintje jelzi a hemolízis jelenlétét.
- *Kreatinin emelkedés*: a vese károsodása esetén a kreatinin szintje emelkedik, ennek mértéke kórképenként változó.
- *Vizeleteltérések*: a vizeletben gyakran fehérje és vörösvérsejt, valamint szabad hemoglobin jelenik meg. A veseműködés károsodásának jele.

2. Leggyakoribb klinikai tünetek

- *Thrombocytopenia okozta vérzés*: a bőrön és a nyálkahártyákon pontszerű bevérzések vagy kisebb véraláfutások. Néha a nagyon súlyos thrombocytopenia ellenére vérzékenységi tünet egyáltalán nincs. A súlyos vérzés bár előfordul, általában ritka.
- *Haemolysis okozta vérszegénység*: a vörösvérsejtek mechanikus pusztulása vérszegénységhez vezet, ha a vörösvérsejtképzés ezzel nem tud lépést tartani. A vér-

szegénység mértéke változó, kezdetben akár hiányozhat is.

- *Neurológiai tünetek*: fejfájás, tudatzavar, beszédzavar, érzésvizelés, bénulás, görcs a legkülönbözőbb kombinációban jelentkezhetnek. Főleg a thromboticus thrombocytopeniás purpurában (TTP) láthatók, de itt sem kötelező tünet. Jellegzetességük, hogy a tünetek gyakran „mozognak”, spontán javulnak, romlanak.
- *Veseelégtelenség*: a vese méregtelenítő funkciójának beszűkülése, a vizelet mennyiségének csökkenése jellemzi. Akár művesekezelésre is szükség lehet. Elsősorban haemolyticus uraemiás szindrómában (HUS) és a HELLP szindrómában látjuk.
- *Láz*: jelentkezhet infekció nélkül (főleg TTP-ben), de jelezhet társuló fertőzést is.
- *Egyéb tünetek*: az idegrendszer és a vese mellett a leggyakrabban érintett szerv a szív, mely ritmuszavarban, szívizomelhalásban, szívelégtelenségben nyilvánulhat meg. Mivel a microthrombosisok az egész szervezetet érintik, egyéb tünetek is jelentkezhetnek: bélperforáció, hasnyálmirigy-gyulladás stb.

3. A legfontosabb klinikai formák

a. *Thromboticus thrombocytopeniás purpura* (Moschcowitz-szindróma, TTP)

Ritka betegség, főként nőket érint, leggyakrabban fiatal felnőtt korban jelentkezik, de bármely életkorban előfordulhat. Leggyakrabban egy vérplazmában keringő faktor (az ADAMTS13 enzim) szerzett vagy veleszületett hiánya okozza, 10% alatti enzimaktivitás jellemzi. Az enzim a von Willebrand-faktor (VWF) fiziológias lebontását végzi. A VWF egy összetett szerkezetű véralvadási faktor, mely óriásmolekula (ultranagy VWF, ULvWF) formájában az érfal belső felszínét borító sejteket (endothel) károsító vagy stimuláló inger hatására jut a keringésbe. Élettani szerepe a vérlemezkék lehorgonyozása, ún. „thrombocytadugó” tömítés létrehozása az érfalsérülés helyén. Az ADAMTS13 enzim gondoskodik arról, hogy a felesleges VWF-t a thrombocytákat kevésbé kötő, kisebb darabokra hasítsa. Ha az ADAMTS13-enzim-működés bármilyen ok miatt hiányzik, akkor vérlemezkedugók alakulnak ki a kisereken, melyek elárastják a szervezetet, elsodródva, távoli szervekben (leggyakrabban: agy, vese, szív) is vérellátási zavart okozhatnak. A folyamat felhasználja a vérlemezkéket, lecsökken a vérlemezkeshám (thrombocytopenia), vérzékenység jöhet létre. A vörösvérsejtek az elrögződött kisereken áthaladva mechanikusan károsodnak és szétesnek (haemolysis), ami vérszegénységben nyilvánulhat meg. A kórképnek szerzett és veleszületett formája egyaránt ismert:

- *A veleszületett forma: Upshaw-Schulman-szindrómának* is hívják, nagyon ritka, az *enzim genetikus zavara* áll a háttérben. Típusosan jelentkezhet már az újszülöttkorban vagy csak a későbbiekben, főleg a terhesség során. Az enyhe formák esetében a diagnózis gyakran sokáig késik. A kórkép öröklődhet.

- *A szerzett forma:* az enzimműködés zavara az *enzimműködést gátló autoantitest (inhibitor)* miatt következik be. Kezelés nélkül a halálozási arány 90% feletti, időben elkezdett, megfelelő kezeléssel a betegek közel 80–95%-nál érhető el tartós tünetmentes állapot. A kórkép a későbbiekben visszatérhet (l. még a 6/a pont alatt). Nem öröklődik.

b. *Haemolyticus uraemiás syndroma (HUS)*

Összefoglaló név, több jól meghatározható kórkép sorolható ide:

- **Típusos HUS (STEC-HUS):** verotoxint termelő baktériumokkal (*Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Citrobacter freundii*) történt fertőzés okozza, melynek forrása legtöbbször étel vagy ital. A gyermekkori veseelégtelenségek leggyakoribb oka. Főleg a 2–5 év közötti gyermekeket érinti, de felnőttkorban is előfordul. Jellegzetes tünete a véres hasmenés – ezért hívták korábban diarrhoea (hasmenés) asszociált „D+” HUS-nak – követő akut veseelégtelenség, haemolysis, thrombocytopenia. Neurológiai és egyéb tünetek is előfordulhatnak. Rendszerint jó gyógyhajlamú forma, legtöbbször tartós károsodás nélkül meggyógyul, visszaesések vagy családi halmozódás (kivéve a több családtagon, egyidejűleg jelentkező eseteket) nem jellemzik. Felnőttekben már kevésbé jó a kimenetel. 2011-ben Németországban zajlott egy addig ismeretlen *E. coli* törzs által okozott óriási járvány, mely szokatlan módon főleg felnőtt nőket érintett, jelentős számban okozott súlyos neurológiai tüneteket, és magas halálozással járt. A kórkép nem öröklődik.
- **Pneumococcus HUS (P-HUS):** a 2 év alatti gyermekek nagyon súlyos betegsége. A tünetekért a *Streptococcus pneumoniae* baktérium által termelt neuraminidase enzim a felelős, mely a sejtmembránokon a szialsavat lehasítva rejtett antigének felszínre kerülését okozza. A plazmában normálisan jelen lévő antitestek ezekkel a rejtett antigénnel reagálnak és sejtkárosodást okoznak. A kórkép általában nem öröklődik.
- **Atípusos HUS (aHUS):** rendszerint a komplementrendszer alternatív aktivációs útjának szabályozási zavara áll a háttérben. A komplementrendszer a vérplazmában található, a veleszületett immunrendszer igen fontos része. Az alternatív aktivációs út fontos szerepet játszik a kórokozók elleni védekezésben. Normális körülmények között ez a rendszer folyamatos spontán aktivitást mutat. A szabályozó fehérjék feladata, hogy ezt a parázsló aktivitást féken tartsák, ill. megakadályozzák, hogy a komplementaktiváció a saját sejteket károsítsa. A hibás működés endothel (az ereket belülről borító sejtréteg) károsodást és a szervezetet elárasztó apró vérrögök keletkezését okozza, mely a legkülönbözőbb szervek működési zavarát eredményezi. A legmarkánsabb eltéréseket a vese, szív és az idegrendszer mutatja. A hematológiai eltérések (haemolysis, anaemia, thrombocytopenia) általában szerényebbek, mint a TTP-ben. Bármely életkorban előfor-

dulhat, de főleg újszülötteket, 5 évnél idősebb gyermekeket, és fiatal felnőtteket érinti. Nincs jellegzetes bevezető fázisa (hiányzik a véres hasmenés), a folyamat rendszerint krónikus, visszaesésekkel tarkított, családi halmozódást is mutathat. Megfelelő kezelés nélkül gyakran vezet végstádiumú veseelégtelenséghez, magas a halálozása, az átültetett vese graftban pedig rendszerint visszatér. Több formája ismert:

- **Veleszületett forma:** a komplementrendszer alternatív aktivációs útjának szabályozó faktorai genetikai okból nem megfelelően működnek vagy nem termelődnek. Öröklődő kórkép.
- **Szerzett forma:** autoantitest akadályozza a szabályozó fehérjék (pl: H-faktor) működését. Nem öröklődő kórkép.
- **Secunder (másodlagos) TTP-HUS**

Különböző gyógyszerek, infekciók, daganatok, autoimmun kórképek mellett a TTP-re és a HUS-ra is emlékeztető klinikai tünetek és laboreltérések jöhetnek létre. Ezek kialakulásának oka, mechanizmusa nagyon eltérő, sokszor pontosan nem is ismert. Nem öröklődő kórképek.

4. A kivizsgálás menete

A kivizsgálás komplex, időigényes folyamat, mely igen költséges is. A pontos diagnózis kiderítése a megfelelő terápia kiválasztásához ma már elengedhetetlen. Az alábbi vizsgálatokra kerülhet sor:

- teljes vérkép, perifériás vérkenet
- vérkémiai és immunológiai vizsgálatok
- véralvadási vizsgálatok
- ADAMTS13-vizsgálatok (indokolt esetben genetika is)
- komplementvizsgálatok (indokolt esetben genetika is)
- vércsoport-szerológiai vizsgálatok
- virológia (HIV is)
- vizeletvizsgálat (kémia, tenyésztés, terhességi teszt)
- székletvizsgálat (tenyésztés, verotoxin is)
- képalkotó vizsgálatok (mellkasröntgen, hasi/szívult-rahang, koponya CT/MRI)
- egyéb vizsgálatok (crisabiopszia, vesebiopszia,)

Genetikai vizsgálatra az örökletes tényezők azonosítása miatt kerülhet sor, pozitív eredmény esetén családvizsgálatra is szükség lehet. Genetikai vizsgálat csak az Ön bejegyzésével végezhető.

5. Terápiás lehetőségek

Az egyes kórképekben az időfaktor olyan magas lehet, hogy nincs idő megvárni az összes vizsgálat eredményét. Ilyenkor a kórkép alapos gyanúja is elegendő a kezelés megkezdéséhez.

- a. **Plazmacsere:** erre a célra kifejlesztett sejt- vagy plazmaszeparátorral történő olyan testen kívüli vértisztító eljárás, melynek során a betegből kb. 40–60 ml/testtömegkg plazmát távolítanak el és a TTP és a HUS

esetében döntően friss, véradóktól származó plazmával pótolnak. Az eljárás célja a kórképerért felelős kóros anyag (autoantitest, kóros szabályozó faktor) eltávolítása és a hiányzó vagy nem működő anyag (enzimek, normális szabályozó faktor) nagy térfogatú pótlása. A kezeléshez centrális kanülre lehet szükség. (A részleteket ld. az intézményi szintű plazmacserebeteg-tájékoztató és beleegyezési nyilatkozatban.) A TTP elsődleges kezelését jelenti jelenleg is. Atípusos HUS-ban ma már csak rövid távon (legfeljebb 5–10 nap) indokolt, hosszabb kezelés akkor jön szóba, ha a komplementgátló kezelés nem elérhető, vagy a diagnózis nem tisztázott.

- b. **Plazmatranszfúzió:** friss, véradóktól származó plazma transfúziós szereléken történő beadása 10–30 ml/kg dózisban. A TTP genetikai formájának bázis-terápiája. Az atípusos HUS egyes eseteiben (ha a regulátor fehérje nem kóros, hanem hiányzik) is alkalmazható, különösen, ha komplementgátló kezelés nem áll rendelkezésre.
- c. **Immunszuppresszív kezelés:** a TTP és az atípusos HUS szerzett, autoantitestek által okozott formáiban alkalmazott terápia. Leggyakrabban szteroidot és/vagy rituximabot alkalmaznak. Ez utóbbi indikáción túli alkalmazás, így OGYI- és OEP-finanszírozási engedélyt igényel. Rituximab terhesség alatt nem adható, alkalmazása után terhesség egy évig nem javasolt. Nem veszélytelen szer, akár halálos szövődmény is előfordulhat (l. rituximab beteg-tájékoztató). Ritkábban egyéb szerek (cyclophosphamid, cyclosporin, mycophenolate-mofetil, stb.) is szóba jöhetnek.
- d. **Komplementgátló kezelés (eculizumab):** igazolt atípusos HUS-ban (gyermekeknél alapos gyanú esetén is) az elsődlegesen választandó kezelés. Óriási kezelési költsége miatt alkalmazása minden esetben OEP-finanszírozási engedélyhez kötött. Tüneti terápia, mely leállítja a komplementaktivációt anélkül, hogy az alapfolyamatot befolyásolná. Rendszerint tartós, több hónapos vagy -éves, sok betegnél az élet végéig történő kezelést jelent. A terápia megkezdése előtt legalább 2 héttel *Neisseria meningitidis* elleni (gyermekekben *Haemophilus influenza* és *Pneumococcus* ellen is) oltás szükséges, egyes esetekben antibiotikum átmeneti vagy tartós alkalmazása mellett. (Részleteket l. Alexion: aHUS-beteg, ill. szülői információs füzet.)
- e. **Lépelátvitás, splenectomia:** a TTP szerzett, inhibitoros formájában a gyakori visszaesések kivédésére ma is használható eljárás. A visszaesés gyakoriságát csökkenti. Előtte a tokos baktériumokkal szemben oltás szükséges.
- f. **Thrombocytaaggregáció-gátlás, thrombosisprophylaxis, vérrögösödés-megelőzés:** 50 G/lfeletti thrombocytaszám esetén általában kis dózisú aspirint és alacsony molekulású heparint is alkalmaznak a kezelés során.
- g. **Transzfúziós kezelés:** thrombocytatranszfúzió általában csak súlyos klinikai vérzés esetén adható, önma-

gában az alacsony thrombocytaszám az alkalmazását nem indokolja. Vörösvérsejt-transzfúzió a betegek jelentős részénél szükséges, választott, szűrt (fehérvérsejtmentes) készítmény formájában. Friss fagyaszott plazma adására a plazmacserén kívül is sor kerülhet, különösen TTP-ben. Mivel a hazai vérkészítmények nem vírusinaktiváltak, a vírusátvitel veszélye bár alacsony, de nem nulla.

- h. **Egyéb szupportív terápia:** a betegek egy része intenzív osztályos kezelésre, parenterális táplálásra, gépi lélegeztetésre, dialysisre is szorul. Fontos az ionháztartás, sav-bázis egyensúly, hypertonia megfelelő kezelése és az esetleges infekciók felkutatása és ellátása.

6. Gyógyulási esélyek

- a. **TTP-ben:** időben elkezdett plazmacsere (szükség esetén kiegészítve immunszuppresszív kezeléssel) mellett a betegek 80–95%-a kerül tartósan tünetmentes állapotba. A betegek kis részénél kisebb-nagyobb, főleg idegrendszeri maradványtünetek lehetnek: memória-problémák, személyiségzavar, bénulás vagy egyéb tünetek. A kórkép a betegek 20–50 %-nál a későbbiekben visszatér (relapsus). Ennek időpontja szélsőséges határok között változik és előre nem jósolható meg. A relapszust leggyakrabban terhesség, infekció, műtét váltja ki. Ha az ADAMTS13-aktivitás kóros marad, vagy újra azzá válik a tünetmentes szakaszban, a visszaesés esélye nagyobb. Az ilyenkor megismételt rituximabkezelés az enzimaktivitást a betegek egy részénél normalizálhatja. Ugyanakkor számos beteg alacsony vagy akár nulla aktivitás mellett is évekig tünetmentes lehet.
- b. **Atípusos HUS-ban:** minél korábban kezdjük a komplementgátló kezelést, az esély annál nagyobb a veseműködés visszatérésére: 28 napon belül indított kezelésnél a legjobbak az eredmények, 3 hónapon túli dialysis esetén vesebiopszia dönthet a gyógyszer adásának vagy folytatásának javallatáról. Az enormis kezelési költségek, a szövődmények lehetősége, valamint a rendszeres infúziós kezelés okozta kellemetlenség elkerülése céljából eredményes próbálkozások folynak a szer adásának felfüggesztésével a stabil remisszó elérése után. Ilyenkor nagyon szoros betegkontroll szükséges (vizelet ellenőrzése tesztcsikkal heti 2-szer), és a visszaesés első jelére folytatni kell a kezelést. Plazmacsere alkalmazása mellett hematológiai remisszió könnyen kialakul, de a vesefunkció javulása csak ritkán látható, a legtöbb beteg végstádiumú veseelégtelen lesz. Atípusos HUS miatti veseátültetés esetén a komplementgenetikai vizsgálat eredménye elengedhetetlen az optimális terápia megválasztásához.
- c. **Típusos HUS:** szupportív kezelés mellett általában meggyógyul. A maradványtünet ritka, a halálozási ráta alacsony.

d. *Secundaer TTP-HUS-ban*: az alapbetegség kezelhetősége dönti el a kimenetelt, sajnos a prognózis gyakran rossz.

7. Terhesség a TTP-HUS után

a. *A TTP* inhibitoros formájában a kórkép a terhesség során gyakran visszatér, ami a plazmacsere (szükség esetén kiegészítve szteroidterápiával (rituximab a terhesség alatt nem adható) bevezetését teszi szükségessé. A folyamatot a szülés általában tovább aktiválja. Ezért későbbi terhesség nagyon gondosan mérlegelendő. Hatékony fogamzásgátlás szükséges, az oestrogen tartalmú készítmények kerülendők. Amennyiben a beteg mégis a terhesség mellett dönt, ez csak rendszeres (hetenkénti) ellenőrzéssel, harmadlagos ellátási centrumban, együttes szülészeti és hematológiai gondozás mellett engedhető meg. A pozitív, komplikációmentes kimenetelt azonban nem lehet garantálni.

A TTP örökletes formájában a terhesség alatti rendszeres plazmatranszfúzió a magzati és anyai komplikációk esélyét csökkenti, de teljesen nem védi ki.

Mindkét formában az ADAMTS13-aktivitás és a thrombocytaszám rendszeres ellenőrzése a terhesség alatt és után alapvetően fontos.

b. *Atípusos HUS*-ban az eculizumab adását a terhesség alatt a gyártó cég kellő számú klinikai adat hiányában jelenleg még nem javasolja. Ezért a kezelés csak OGYI off-label és OEP-finanszírozási engedélyt követően végezhető.

c. *Típusos HUS* az anamnesisben a terhesség szempontjából kockázatot nem jelent, ha a kórkép maradványtünetek nélkül gyógyult.

1.2. *A tevékenységsorozat elvégzésekor használt ellenőrző kérdőívek, adatlapok*

Nincsenek.

1.3. *Táblázatok*

Ld. a szövegben.

1.4. *Algoritmusok*

Ld. a szövegben.

1.5. *Egyéb dokumentumok*

Nincsenek.

2. Alexion – aHUS beteg, ill. szülői információs füzet

aHUS beteg-, ill. szülői információs füzet



Ezen tájékoztató füzetet minden aHUS-os beteg illetve szülője/gondviselője az első gyógyszerzállítvánnyal meg kell kapja kezelőorvosától.



Ennek a dokumentumnak a legutóbbi jóváhagyási dátuma: (DATE OF APPROVAL OF THE DOCUMENT) Jóváhagyta: (NATIONAL AUTHORITY TO BE COMPLETED LOCALLY)

BEVEZETÉS

Ez az útmutató atipusos hemolitikus urémia szindrómában (aHUS) szenvedő felnőtt és serdülő betegek, illetve gyermek és serdülő aHUS betegek szülei számára készült. Az útmutatóban információkat talál a SOLIRIS® gyógyszerrel, hogyan kell azt beadni, továbbá fontos biztonsági információkat, amelyeket ismernie kell. Kezelőorvosától kaphat egy másik útmutatót is, amely speciálisan kisgyermek szülei számára készült.

MI A SOLIRIS®?

A SOLIRIS az aHUS betegek kezelésére szolgáló gyógyszer. Humanizált monoklonális ellenanyag típusú szer. Az ellenanyagok olyan anyagok, amelyek a vérben speciális célpontokhoz kötődhetnek. A „humanizált” azt a tényt írja le, hogy az ellenanyagot úgy állították össze, hogy a lehető legjobban hasonlítson egy humán ellenanyaghoz. A „monoklonális” azt jelenti, hogy a hatóanyag egy eredeti ellenanyagból származik, vagyis azok pontosan megegyeznek.

Az aHUS betegségben a természetes immunrendszer speciális, komplement rendszernek nevezett részének, rendszerint a komplement rendszer szabályozásának genetikus hibája következtében, túlzottan nagy az aktivitása. A komplement rendszer mindig bekapcsolt állapotban van, és túlzott aktivitása károsíthatja a szervezet saját szöveteit és szerveit. Ennek során elpusztítja a kis ereket és vérrögöket képez, amelyek elzárják a szövetekhez és szervekhez szállított vér áramlását. Ennek a folyamatnak az orvosi neve trombotikus mikroangiopátia (TMA). aHUS betegségben a TMA több szervet károsíthat, többet között a vesét, az agyat és a szívet.

A SOLIRIS ellenanyag, amely kötődik a komplement rendszer egyik részéhez, és inaktiválja a rendszert. Ezért a SOLIRIS megakadályozza, ill. csökkenti a kis erek pusztulását és a vérrögképződést, valamint csökkenti az aHUS tüneteit és a szervi károsodást. Mivel az aHUS krónikus betegség, a SOLIRIS kezelés általában hosszú távú.

GYIK

MELYEK A SOLIRIS KEZELÉSSEL ÖSSZEFÜGGŐ BIZTONSÁGI MEGFONTOLÁSOK?

FONTOS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Mivel a SOLIRIS részben gátolja immunrendszerét, növeli a súlyos fertőzés és szepszis kockázatát, különösen a *Neisseria meningitidis* nevű baktériumtípus esetében. Ez meningitist, agyhártyagyulladást, illetve súlyos vérmérgezést okozhat.

Ezek a fertőzések sürgős és megfelelő kezelést igényelnek, és gyorsan végzetessé vagy életveszélyessé válhatnak, illetve súlyos maradandó károsodásokat okozhatnak.

Fontos megérteni az ezen fertőzések kockázatának csökkentése érdekében tett óvintézkedéseket, illetve mit kell tennie, ha fertőzésére gyanakszik (lásd alább).

SZÓSZEDET

Atipusos hemolitikus urémias szindróma (aHUS)

Ritka rendellenesség, amelyet normál immunrendszer egy része, a komplement rendszer krónikus és túlzott aktiválása okoz. A túlzottan aktív komplement rendszer károsítja a kis ereket és a szervezetben mindenütt vérrögök képződését okozza, ennek a folyamatnak a neve trombotikus mikroangiopátia (TMA). A TMA sok szervet károsíthat, többek között az agyat, a vesét és a szívet.

Vérrögök

A vér alvadékok képezhet a vérzés elállítására, azonban aHUS betegségben nagyon könnyen képződnek vérrögök, ami az erek elzáródásához és szervi károsodáshoz vezet.

Hemolízis

A vörösvértestek rendellenes lebomlása, amely aHUS betegségben különféle tüneteket okozhat.

krónikus hemolízis

A vörösvértestek lebomlása (hemolízis), amely hosszú ideig tart (krónikus).

Komplement rendszer (másik neve gyakran komplement)

Immunrendszerének az a része, amely normál esetben elpusztítja a baktériumokat és más idegen sejteket. aHUS betegségben ez krónikusan és túlzott mértékben aktivál, ami a saját szöveteket károsítja a vékony erek tönkretételével, és vérrögök képzésével, ami károsítja a szerveket, többek között az agyat, a vesét, a szívet és más szerveket.

Vesekárosodás, illetve -elégtelenség

Olyan állapot, amelyben a vese működése leáll, a vese nem képes eltávolítani a káros anyagokat, és nem képes szabályozni a szervezetben a víz és életfontosságú anyagok mennyiségét.

Meningococcus fertőzés

A *Neisseria meningitidis* baktérium okozta fertőzés (más néven agyhártyagyulladás). Ez a baktérium meningitist vagy általános vérmérgezést (szepszist) okozhat.

Vérlemezkék

A vérlemezkék egymáshoz tapadt kis sejtek a vérben, amelyek vérrögöt képeznek. aHUS betegségben a vérlemezkék könnyen vérrögöt képeznek, és emiatt előfordulhat, hogy vérérvizsgálat alacsony vérlemezkeszámot mutat ki.

Vörös vértestek (RBC-k)

Olyan vértestek, amelyek egy hemoglobinból nevezett összetett fehérje segítségével oxigént szállítanak. aHUS betegségben a vörösvértestek az elzárt és elroncsolt kis ereken áthaladva elpusztulnak.

Trombózis (trombotikus események)

Vérrög képződése, amely megakadályozza a vér átfolyását az éren. aHUS betegségben a kisméretű ereken (jellemzően az agyban, a vesében, a szívben és más szervekben) vérrögök jelenhetnek meg.

Trombotikus mikroangiopátia (TMA)

aHUS betegségben annak a folyamatnak a leírása, amelynek során a vékony erek elpusztulnak, és ezekben a károsodott ereken vérrögök képződnek. A TMA oka a komplement rendszer krónikus és túlzott mértékű aktiválódása, ez okozza aHUS betegeknél a károsodást és a betegséget.

Biztonsági óvintézkedésként:

A SOLIRIS kezelés megkezdése előtt **VÉDŐOLTÁST KELL KAPNIA meningococcus fertőzés ellen, és bizonyos esetekben antibiotikummal kell csökkenteni a *Neisseria meningitidis* fertőzés kockázatát arra az időre, amíg a védőoltás hatása elkezdődik.**

Kezelőorvosa vagy a nővér gondoskodik róla, hogy az első infúzió előtt legalább 2 héttel megkapja ezt a védőoltást.

Amennyiben nem áll rendelkezésre kisgyermek számára oltóanyag, illetve az oltás Önnél ellenjavallt, gyermeke, ill. Ön a kezelés időszaka alatt, illetve a védőoltás beadhatóságát követő két héten antibiotikumot fog kapni.

Gyermekek és 18 év alatti serdülők *Haemophilus influenzae* és pneumococcus fertőzés elleni védőoltást is kapnak a nemzeti védőoltási irányelvek szerint legalább két héttel a SOLIRIS terápia megkezdése előtt, az egyes korcsoportokra vonatkozó nemzeti védőoltási ajánlásokkal összhangban.

MELYEK AZOK A TÜNETEK, AMELYEK FIGYELMEZTETNEK ENGEM A KEZELÉS ALATT?

A védőoltás csökkenti a fertőzés kialakulásának kockázatát, de teljesen nem szünteti azt meg.

Ismernie kell a fertőzés jeleit és tüneteit és haladéktalanul értesítenie kell kezelőorvosát, ha a következő tünetek BÁRMELYIKÉT észleli:

- Émelygesséssel vagy hányással járó fejfájás
- A nyak vagy a hát merevségével járó fejfájás
- Láz
- Kiütés
- Zavartság
- Súlyos izomfájdalom influenzaszerű tünetekkel kombinálva
- Fényre való érzékenység

Ha nem tudja elérni kezelőorvosát, menjen sürgősségi osztályra, és mutassa meg nekik betegbiztonsági kártyáját.



Újszülöttek szülei, ill. gondviselői számára: legyen tudatában annak, hogy a jellegzetes tünetek, például a fejfájás, a láz és a nyakmerevség nehezen észlelhető ebben a korban, így csecsemők esetében egyéb tüneteket is figyelni kell többek között: aktivitás hiánya, ingerlékenység, hánys és gyenge evés.

MIK A TEENDŐIM A TERÁPIA MEGKEZDÉSE ELŐTT?

A kezelés elkezdése előtt orvosa megbeszéli Önnel a következők fontosságát:

- Meningitis elleni védőoltásban részesülnie és bizonyos esetekben speciális antibiotikumot szednie *Neisseria meningitidis* nevű baktérium típusú való fertőződés kockázatának csökkentése érdekében.
- Meg kell értenie a fertőzéssel járó tüneteket és a teendőket ezeknek a tüneteknek az észlelése esetén.
- Ha gyermeke kezelése alatt áll, meg kell értenie, hogy gyermeke a nemzeti védőoltási irányelvekkel összhangban legalább két héttel a SOLIRIS terápia megkezdése előtt védőoltást kell kapjon *Haemophilus influenzae* és pneumococcus fertőzések ellen.
- Hogy kezelőorvosa a SOLIRIS kezelés esetleges abbahagyása után gondosan figyelemmel kísérje állapotát.

Kezelőorvosa vagy a nővér gondoskodik róla, hogy az első infúzió előtt legalább 2 héttel megkapja a meningococcus fertőzés elleni védőoltást és/vagy esetleg antibiotikumos kezelést is a *Neisseria meningitidis* fertőzés kockázatának csökkentése érdekében.

Ezenkívül, kezelésének ideje alatt szoros megfigyelés alatt tartják meningococcus és más fertőzések vonatkozásában.

HOGYAN KEZDIK EL SOLIRIS TERÁPIÁMAT?

A SOLIRIS-t csak orvos rendelheti el.

Kezdőkészletet is fog kapni, amelynek tartalma:

- **Betegbiztonsági kártya:** Nagyon fontos, hogy SOLIRIS kezelésben részesülő betegek orvosai gyorsan azonosítsanak és kezeljenek bizonyos típusú fertőzéseket; ezért biztonsági kártyát kapnak, amely felsorolja azokat a speciális tüneteket, amelyekre mindig oda kell figyelnie. Ezt a kártyát mindig magánál kell hordani, és meg kell mutatni az önt kezelő egészségügyi szakembereknek.
- **aHUS beteg-, ill. szülői információs füzet.**
- **Kisgyermekek szülei, ill. törvényes gondviselői aHUS szülői útmutatót kapnak.**
- Kezelőorvosa felajánlja Önnek, illetve gyermekének az **aHUS nyilvántartásban való részvételt**. Ebben a nyilvántartásban kezelőorvosa regisztrálhatja Önt, illetve gyermekét.

MENNYI IDEIG KELL KAPNOM A SOLIRIS KEZELÉST?

Mivel az **aHUS krónikus betegség**, a SOLIRIS készítmény **folyamatosan** alkalmazandó.

Azoknak a betegeknek, akik SOLIRIS kezelést kezdtek, továbbra is kapniuk kell a SOLIRIS készítményt, akkor is, ha jobban érzik magukat. Ha megszakítja vagy befejezi a SOLIRIS kezelést, a leállítást követően visszatérhetnek az aHUS tünetei.

Egyes betegek, akiknél leállították a SOLIRIS kezelést, utána azt tapasztalták, hogy visszatérnek az aHUS jelei és tünetei. A SOLIRIS kezelést csak akkor hagyja abba, ha ezt megbeszélte az Önt kezelő egészségügyi szakemberrel, illetve csak orvosi felügyelet mellett.

Ha a SOLIRIS kezelés abbahagyását tervezi, **előzőleg beszélje meg kezelőorvosával a lehetséges mellékhatásokat és kockázatokat, amelyek között szerepel a kis véredények pusztulása és a vérrögképződés. Ez a következőket okozhatja:**

- A következő tüneteket tapasztalhatja: Csökkent vizeletürítés (vese problémák), zavartság, illetve éberségi szintjének megváltozása.
- Következmények a vérképben: Lényegesen csökkent trombocitaszám, mivel a vérlemezkék felhasználódnak a vérrögképzésben, jelentős növekedés vörös vértestjeinek pusztulásában, növekvő szérum kreatinin szint (problémák a veséjével).
- Mellkasi fájdalom vagy angina, légszomj.

HOGYAN ADJÁK BE A SOLIRIS-T?

A SOLIRIS beadási módja **intravénás infúzió** (oldat bevezetése vénába). Az infúzió időtartama **25 és 45 perc** között van. A gyógyszert orvosnak vagy egyéb, megfelelően képzett egészségügyi szakembernek kell elkészítenie és beadnia.

Hasonlóan más intravénás infúzióban beadott hatóanyagokhoz, a SOLIRIS kezelésnek lehetnek azonnali vagy késleltetett mellékhatásai. Ha ilyet észlel, forduljon kezelőorvosához.

Mivel fennáll az infúziós reakció (például allergiás reakció) kockázata, az egyes infúziók után kb. egy órán át megfigyelés alatt tartják. Pontosan be kell tartania kezelőorvosának utasításait.

MILYEN DÓZISBAN ALKALMAZZÁK A SOLIRIS-T?

Felnőtteknél:

Kezdeti fázis	Fenntartó fázis
Az első négy héten kezelőorvosa hetente bead egy hígított SOLIRIS infúziót. Mindegyik infúzió 900 mg dózist tartalmaz (3 db 30 mL-es fiola), ez 25–45 percig tart.	Az ötödik héten kezelőorvosa egy 1200 mg-os hígított SOLIRIS dózist ad be intravénás infúzióban (4 db 30 mL-es fiola), 25–45 perc alatt. Az ötödik hét után kezelőorvosa hosszú távú terápiaként minden két héten bead 1200 mg (4 db 30 mL-es fiola) gyógyszert.

Gyermekeknél és serdülőknél:

Testtömeg	Kezdeti fázis	Fenntartó fázis
≥40 kg	900 mg hetente, 4 héten át	1200 mg az 5. héten; utána 1200 mg minden két héten
30–<40 kg	600 mg hetente, 2 héten át	900 mg a 3. héten; utána 900 mg minden két héten
20–<30 kg	600 mg hetente, 2 héten át	600 mg a 3. héten; utána 600 mg minden két héten
10–<20 kg	600 mg hetente, 1 alkalommal	300 mg a 2. héten; utána 300 mg minden 2 héten
5–<10 kg	300 mg hetente, 1 alkalommal	300 mg a 2. héten; utána 300 mg minden 3 héten

aHUS betegségben szenvedő, 40 kg fölötti testtömegű gyermekek és serdülők a felnőtt adagolást kapják.

aHUS betegségben szenvedő, 40 kg alatti testtömegű gyermekek és serdülők esetében a testtömeg alapján kisebb a dózis. Ezt kezelőorvosa kiszámolja.

VANNAK-E MÁS TUDNIVALÓK SOLIRIS KEZELÉSEM ALATT?

Fertőzési kockázat

Hatásmechanizmusa következtében a SOLIRIS terápia körütekintéssel alkalmazandó aktív szisztémás fertőzésben szenvedő betegeknek.

Allergiás reakciók

A SOLIRIS fehérvérjé tartalmaz, és a fehérvérjé egyes embereknél allergiás reakciókat váltanak ki. Ha a SOLIRIS alkalmazása után bármilyen jelet vagy tünetet észlel, beszélje meg az Önt kezelő egészségügyi szakemberrel.

Kezelés egyéb gyógyszerekkel

Fontos megérteni, hogy az Ön által szedett egyes gyógyszerek (különösen véralvadást gátlók (vérhígítók), mint pl. aspirin vagy warfarin) adagjának módosítását meg kell beszélnie kezelőorvosával. Gondoskodjon róla, hogy kezelőorvosa ismerjen minden Ön által szedett gyógyszert.

Vese- és májkárosodás

Ha vese- vagy májkárosodásban szenved erről még a kezelés megkezdése előtt tájékoztassa kezelőorvosát.

Terhesség

A SOLIRIS kezelés terhesség alatt nem ajánlott, mivel az ekulizumab károsíthatja a magzatot. SOLIRIS kezelés előtt tájékoztassa kezelőorvosát, ha terhes vagy terhességét tervezi. Fogamzóképes nőknek a kezelés alatt és azt követően 5 hónapig megfelelő fogamzásgátló módszereket kell alkalmazni.

Szoptatás

A SOLIRIS az anyatejben keresztül bejuthat csecsemője szervezetébe. Ezért SOLIRIS kezelés alatt és azt követően 5 hónapig ne szoptasson.

Idősek

65 éves vagy idősebb kezelt betegeknél nincsenek különleges óvintézkedések.

Nemkívánatos hatások

A SOLIRIS alkalmazását általában jól tolerálják. A leggyakrabban leírt mellékhatások: fejfájás és alacsony fehérvérsejtszám (leukopénia), valamint a legsúlyosabb mellékhatás, a meningococcus fertőzés. A legtöbb fejfájás enyhe, és a SOLIRIS alkalmazásának első fázisa után megszűnik.

HIVATKOZÁSOK

01. SOLIRIS (eculizumab) aktuális betegtájékoztató Alexion Europe.

Az Alexion Europe betegoktatási szolgáltatása

Az aHUS-ra vonatkozó további információkért az alábbi elérhetőségeken érdeklődhet : Email:
info@unicorp.hu

Telefon: 06 1 393 5057

Feltételezett mellékhatások bejelentése

Ha Önnél bármilyen, a Soliris-szel feltételezhetően összefüggő mellékhatás jelentkezik, tájékoztassa kezelőorvosát. Ez az útmutatóban és a betegtájékoztatóban fel nem sorolt bármely lehetséges mellékhatásra is vonatkozik.

A mellékhatásokat közvetlenül a hatóság részére is bejelentheti az Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézethez a www.ogyei.gov.hu honlapon található online bejelentő-felületen keresztül, vagy a honlapról letölthető mellékhatás-bejelentő lap kitöltésével, mely elküldhető emailen (adr.box@ogyei.gov.hu), levélben (Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet, 1372 Budapest, Pf. 450), vagy faxon (+36 1 886 9472).

A mellékhatásokat a forgalomba hozatali engedély jogosult magyarországi képviselőének is jelentheti (amennyiben a hatóságnak már bejelentette, nem szükséges a jogosultnak is jelentenie) az alábbi elérhetőségeken:

e-mail: info@unicorp.hu

telefon: 06 1 393 5057

fax: 06 1 393 5055

A mellékhatások bejelentésével Ön is hozzájárulhat ahhoz, hogy minél több információ álljon rendelkezésre a gyógyszer biztonságos alkalmazásával kapcsolatban.



Alexion Europe SAS
1-15 avenue Edouard Belin
92500 Rueil-Malmaison – FRANCIAORSZÁG



SOLIRIS[®] az Alexion Pharmaceuticals, Inc. védjegye
Copyright © 2015, Alexion Pharmaceuticals, Inc.
Minden jog fenntartva.

aHUS16/HU/02

ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission

Flora Peyvandi,¹ Silvia Lavoretano,¹ Roberta Palla,¹ Hendrik B. Feys,² Karen Vanhoorelbeke,² Tullia Battaglioli,¹ Carla Valsecchi,¹ Maria Teresa Canciani,¹ Fabrizio Fabris,³ Samo Zver,⁴ Marienn Réti,⁵ Danijela Mikovic,⁶ Mehran Karimi,⁷ Gaetano Giuffrida,⁸ Luca Laurenti,⁹ and Pier Mannuccio Mannucci¹

¹Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, University of Milan, Department of Medicine and Medical Specialities, IRCCS Maggiore Hospital, Mangiagalli and Regina Elena Foundation, Luigi Villa Foundation, Milan, Italy; ²Laboratory for Thrombosis Research, IRC, KULeuven Campus Kortrijk, Kortrijk, Belgium; ³Internal Medicine, Unit Department of Medical and Surgical Sciences, University of Padua, Padua, Italy; ⁴Department of Haematology, University Medical Center, Ljubljana, Slovenia; ⁵Department of Hematology and Stem Cell Transplantation, National Medical Center, Budapest, Hungary; ⁶emostasis Department and Hemophilia Center, National Blood Transfusion Institute, Belgrade, Serbia; ⁷Haemostasis and Thrombosis Unit, Haematology Research Centre, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, ⁸Division of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Vittorio Emanuele Ferrarotto-S.Bambino Hospital, University of Catania, Catania, Italy; ⁹Hematology Institute, Catholic University, Rome, Italy

ABSTRACT

Background

From 20 to 50% of patients who survive an acute episode of the acquired form of thrombotic thrombocytopenic purpura relapse but clinical and laboratory markers of recurrence are not well established.

Design and Methods

In 109 patients enrolled in an international registry we evaluated, in the frame of a retrospective cohort study, the predictive role of the metalloprotease ADAMTS13 as measured in plasma during remission. Anti-ADAMTS13 antibodies and von Willebrand factor were also evaluated in a smaller number of the same patients.

Results

Median values of ADAMTS13 activity and antigen were significantly lower in patients with recurrent thrombotic thrombocytopenic purpura than in those with no recurrence (activity: 12% vs. 41%; $p=0.007$; antigen: 36% vs. 58%; $p=0.003$). A severe deficiency of ADAMTS13 activity (10% or less) was associated with a higher likelihood of recurrence (odds ratio 2.9; 95% confidence interval 1.3 to 6.8; $p=0.01$). Anti-ADAMTS13 antibodies were also more prevalent in patients with recurrent thrombotic thrombocytopenic purpura (odds ratio 3.1; 95% confidence interval 1.4 to 7.3; $p=0.006$). The presence during remission of both severe ADAMTS13 deficiency and anti-ADAMTS13 antibodies increased the likelihood of recurrence 3.6 times (95% confidence interval 1.4 to 9.0; $p=0.006$). The presence of ultralarge von Willebrand factor multimers and of associated diseases or conditions did not increase recurrence.

Conclusions

Survivors of an acute episode of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with severely reduced levels of ADAMTS13 and/or with anti-ADAMTS13 antibodies during remission have an approximately three-fold greater likelihood of developing another episode of thrombotic thrombocytopenic purpura than patients with higher protease activity and no antibody.

Key words: thrombotic thrombocytopenic purpura, ADAMTS13, von Willebrand factor, risk factors, recurrence.

Citation: Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys H B., Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, Valsecchi C, Canciani MT, Fabris F, Zver S, Réti M, Mikovic D, Karimi M, Giuffrida G, Laurenti L, and Mannucci PM. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica* 2008 Feb; 93(2):232-239. DOI: 10.3324/haematol.11739

©2008 Ferrata Storti Foundation. This is an open-access paper.

Funding: FP and PMM were supported by the Italo Monzino Foundation and by the Italian Ministry of University and Research (FIRST 2006).

HBF is supported by the IWT-Flanders (IWT-21394).

KV is a postdoctoral fellow of the Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek Vlaanderen.

Manuscript received May 17, 2007
Accepted October 29, 2007.

Correspondence:

Flora Peyvandi, MD, PhD,
Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia
and Thrombosis Center,
IRCCS Maggiore Hospital,
Mangiagalli and Regina Elena
Foundation, University of Milan,
Via Pace, 9, 20122, Milan, Italy.
E-mail: flora.peyvandi@unimi.it

Introduction

Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a rare but severe disease characterized by microangiopathic hemolytic anemia and consumptive thrombocytopenia leading to disseminated microvascular thrombosis that causes variable signs and symptoms of organ ischemia and damage.¹ The pathophysiology of TTP has become clearer after it was demonstrated that the plasma metalloprotease ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin 1 repeats) cleaves the platelet-adhesive plasma protein von Willebrand factor (VWF) at the peptide bond Tyr1605-Met1606.²⁻⁴ The clinical significance of this proteolysis rests on the property of uncleaved VWF of ultralarge molecular weight (ULVWF) to induce microvascular platelet aggregation under circulatory conditions of high shear stress,⁵ and on the observation that TTP is often associated with the congenital or acquired deficiency of the VWF-cleaving protease ADAMTS13.⁶⁻⁸ Acquired TTP is often due to anti-ADAMTS13 antibodies that inhibit the proteolytic activity of ADAMTS13 and/or bind the protease to accelerate its clearance from plasma.⁷⁻¹²

In 20 to 50% of patients who survive the acute initial episode, TTP does recur.¹³⁻¹⁷ Recurrence, defined as the re-emergence of clinical and laboratory signs and symptoms of TTP after the remission of the initial acute episode (more frequently within the first year), occurs with a spectrum of presentations ranging from a single relapse to several episodes developing with variable frequency. Predicting which patients are at higher risk of recurrence is currently difficult. Although low plasma levels of ADAMTS13 activity and the presence of anti-ADAMTS13 antibodies were evaluated as predictors of the outcome of acquired TTP during an acute episode (14,18-20), the role of these markers as measured during remission to predict recurrence is uncertain. The need of predictive markers is

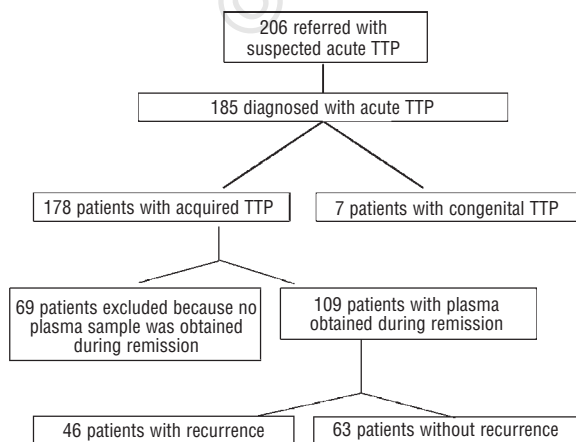


Figure 1. Selection of patients referred to the Hemophilia and Thrombosis Center (from 1994 to 2006) and diagnosed as having thrombotic thrombocytopenic purpura.

more cogent during remission, when the patient is clinically stable, than during the acute episode, when most efforts are directed to achieve remission.

We chose to evaluate the predictive role for recurrence of laboratory markers such as ADAMTS13 activity and antigen, anti-ADAMTS13 antibodies (whether or not inhibiting protease activity), VWF antigen and ULVWF multimers as measured in patients with acquired TTP during the first remission and before any recurrence, comparing patients who experienced only a single episode with those who subsequently had at least one recurrence of TTP. The role of other variables, such as age, sex and the presence of associated conditions, was also evaluated.

Design and Methods

Patients

During the period spanning from 1994 to 2006 clinical centers from eight countries (Italy, Hungary, Iran, Slovenia, Serbia/Montenegro, Greece, Turkey and Russia) had managed patients diagnosed with a first acute episode of TTP. The clinical centers also attempted to collect and store plasma samples, sometimes during the acute phase but more consistently during the period of follow-up after the clinical remission of the first acute episode. Since the year 1999, in the frame of an international registry, the same centers provided the Milan Hemophilia and Thrombosis Center with information on the clinical and laboratory data of these patients, using a specially-tailored collection form (available on request). The original diagnosis of acute TTP was confirmed in Milan when at least three of the following criteria were met: thrombocytopenia with no other apparent cause, Coombs-negative hemolytic anemia with schistocytes in the blood film, high serum levels of lactate dehydrogenase and signs and symptoms compatible with organ ischemia, mainly but not exclusively in the central nervous system.²¹ Alternative diseases that present with similar signs and symptoms – such as the enterohemorrhagic form of the hemolytic uremic syndrome, the catastrophic antiphospholipid syndrome, disseminated intravascular coagulation, pre-eclampsia and related syndromes, collagen vascular diseases, metastatic cancer and Evans' syndrome – were excluded using currently accepted clinical and laboratory criteria. The rare atypical form of the hemolytic uremic syndrome cannot be distinguished from TTP using these criteria.

Figure 1 shows how the patients investigated in this study were selected. Of the 206 patients initially diagnosed with acute TTP by the referring clinical centers, 185 were included in the registry because the diagnosis of TTP was confirmed in Milan; 23 of these patients were included in a previous report dealing with patients who had plasma samples collected during the acute phase of TTP.²² The cohort of the present study ($n=109$, all of Caucasian ethnicity) is smaller than the total cohort of 185 TTP patients enrolled in the registry because plasma samples could not

be obtained during remission from some patients and also because seven patients with genetically-confirmed congenital TTP were excluded, due the predictability of recurrent disease in them (Figure 1). In the great majority of patients blood samples were obtained on one occasion only, before any relapse and at variable times after the attainment of the first remission (Table 1), defined as the maintenance of full normalization of clinical and laboratory data lasting for at least 30 days after stopping plasma therapy following the resolution of the first acute episode.¹⁹ None of the 109 patients was on plasma therapy at the time of remission when samples were collected. Patients were analyzed comparing 46 patients with recurrence, i.e., those with at least two episodes of TTP (range, 2 to 13 episodes), and 63 patients with a single episode and no recurrence during at least 1 year of observation (Table 1). In the former group recurrence was defined as the re-emergence of clinical symptoms and/or laboratory criteria compatible with a diagnosis of TTP (*see above*) occurring at least 30 days or later after remission of the acute episode. This study was conducted with the patients' consent and the approval of the Institutional Review Board of the Milan Center.

Methods. Venous blood samples for the measurements of ADAMTS13 (activity, antigen and anti-ADAMTS13 antibodies) and VWF:Ag were collected into evacuated tubes containing trisodium citrate as anticoagulant and, for some patients only, into EDTA-anticoagulated tubes for multimeric analysis of VWF. Blood was then centrifuged at 2500 rpm for 15 min at 4°C and plasma samples were stored at -80°C. Plasma samples obtained during remission were sufficient and qualitatively adequate to measure ADAMTS13 activity in all the 109 cases. For the other measurements some of the patients' samples were quantitatively or qualitatively inadequate (*see below*).

ADAMTS13 activity. ADAMTS13 activity was measured in plasma from all 109 patients of the cohort using the collagen binding enzyme immunoassay described by Gerritsen *et al.*,²³ with some modifications. The source of VWF used as protease substrate was a purified VWF concentrate (Facteur Willebrand Humain Tres Haute Purité) provided by Laboratoire Francais du Fractionnement et des Biotechnologies (Lille, France). The product, which lacks endogenous ADAMTS13 activity, was reconstituted to a VWF concentration of 100 U/mL, aliquoted and stored at -30°C. The concentrate was then thawed, diluted 1 in 33 with 5 M urea in 5 mM Tris-HCl, pH 8, and incubated for 10 min at room temperature. Subsequently, 50 µL of the dilution of the VWF source were added to 100 µL of serial dilutions (1/10, 1/20, 1/40) of test plasma as a source of ADAMTS13. Test plasmas were diluted in 5 mM Tris-HCl, pH 8 containing 12.5 mM BaCl₂ and 1 mM Pefabloc SC (Roche, Mannheim, Germany). Values were expressed as percentages of pooled normal plasma. Our most recent laboratory evaluation of assay reproducibility yielded an intra-assay coefficient of variation of 9% and an inter-assay coefficient of variation of 12%. The lower limit of sensitivity was 6% of protease levels in pooled normal plasma taken

Table 1. Clinical and laboratory data of patients with or without recurrence during remission after their first acute episode of thrombotic thrombocytopenic purpura.

	Patients without recurrence (n=63)	Patients with recurrence (n=46)
Females	43 (68%)	36 (78%)
Males	20 (32%)	10 (22%)
Age	38 (1-75)*	32 (16-69)*
With associated diseases/conditions [†]	35 (56%)	24 (52%)
infections	16 (30%)	6 (24%)
autoimmune diseases	13 (24%)	6 (24%)
pregnancy/delivery	4 (7%)	4 (16%)
liver disease	3 (6%)	1 (4%)
drug intake	3 (6%)	2 (8%)
major surgery	2 (4%)	0
hematologic malignancy	0	1 (4%)
others	12 (23%)	5 (20%)
Months from the acute episode [to first relapse]	n.a.	21 (2-144)*
Months of observation time to [exclude a relapse]	22 (13-134)*	n.a.
Number of episodes of TTP	1	2 (2-13)*
Months from remission [to sample collection]	10 (1-96)*	12 (1-96)*
ADAMTS13 activity (n=109)	41% (<6-153)*	12% (<6-142)*
ADAMTS13 antigen (n=77)	58% (<2-122)*	36% (<2-101)*
Anti-ADAMTS13 antibody with [Western blotting (n=97)]	36%	64%
Anti-ADAMTS13 antibody by [inhibitory activity (n=58)]	36%	63%
VWF antigen (n=103)	154% (30-505)*	166% (44-310)*
Ultralarge VWF multimers (n=79)	14%	17%

*Data are shown as medians and, between parenthesis, ranges. [†]The sum of patients with different associated diseases/conditions exceeds the number of patients because of multiple associated diseases/conditions in one patient. n.a. denotes not applicable. n denotes the number of patients tested for that measurement.

as the reference standard. The lower value of the reference interval (46%) was set at the 5th percentile of the distribution of the values obtained in 200 healthy individuals. Severe ADAMTS13 deficiency was arbitrarily considered as levels of 10% or less of ADAMTS13 activity in plasma. Previous *in vitro* experiments showed that, using this assay, high plasma levels of VWF do not influence the measurement of ADAMTS13 activity to a major degree.²⁴

ADAMTS13 antigen. ADAMTS13 antigen was measured in 77 available samples (71%) using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) described by Feys *et al.*²⁵ In brief, the murine monoclonal anti-ADAMTS13 antibody 20A5 was used to immobilize the plasma protease on a microtiter plate. Bound ADAMTS13 was detected by using two biotinylated monoclonal antibodies (5C11 and 13F7 at 6.7 nM) and peroxidase labeled streptavidin (Roche, Mannheim, Germany). Four dilutions of test plasma (1/13, 1/26, 1/52 and 1/104) were measured in phosphate buffered saline (PBS) (supplemented with 0.3% skimmed milk) and compared with the reference standard. The lower limit of sensitivity of the assay was 2% of the reference standard. The intra- and inter-assay coefficients of variation were 4% and 8%, respectively. The lower limit of the normal laboratory range is 45%.

Anti-ADAMTS13 antibody. Anti-ADAMTS13 antibodies were searched for in 97 samples (89%) by western blot analysis. The supernatant of cells producing recombinant

ADAMTS13 as previously described²⁶ (100 ng/lane) was added to gel-loading buffer (50 mM Tris-HCl pH 6.8, 2% sodium dodecyl sulphate, 0.1% bromophenol blue, 10% glycerol). Next, 7% sodium dodecyl sulphate polyacryl gel electrophoresis was performed in Tris-glycine buffer, pH 8.3 and migrated samples were transferred onto a pure nitrocellulose membrane (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). After blocking with skimmed milk, membranes were incubated with citrated plasma samples (diluted 1/100 in TBS, 5% skimmed milk, 0.05% Tween 20, pH 7.4) used as a possible source of anti-ADAMTS13 antibody. Bound antibodies were visualized using alkaline phosphatase-labeled anti-human immunoglobulin (diluted 1/2000) and an alkaline phosphatase conjugate substrate kit (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden). No attempt was made to render this method of antibody analysis quantitative.

ADAMTS13 inhibitor. Antibodies inhibiting ADAMTS13 protease activity were searched for in 58 of the 70 patients (83%) who had ADAMTS13 activity below normal plasma levels (46%) by measuring residual activity in a 50:50 mixture of heat-inactivated patient's plasma and normal pooled human plasma. Heat-inactivated plasma was obtained after incubation at 56°C for 60 minutes to completely neutralize endogenous ADAMTS13 activity.^{12,18} A patient was considered to have ADAMTS13 inhibitors (1 Bethesda unit) if the residual activity of the protease in the plasma mixture was less than 50% of that in the control mixture (a 50:50 mixture of heat-inactivated and plain normal plasma).

VWF antigen. VWF antigen (VWF:Ag) was measured in 103 samples (94%) by an enzyme immunoassay using rabbit anti-human VWF polyclonal antibodies as primary and secondary antibodies (DAKO, Glostrup, Denmark). The reference intervals were calculated as for ADAMTS13 (42 to 151%).

VWF multimer analysis. VWF multimer analysis was carried out on 79 samples (72%) using low-resolution sodium dodecyl sulphate-agarose gel electrophoresis with 0.9% low gelling temperature agarose in order to optimally resolve larger multimers. After electrophoresis, gels were fixed, washed and exposed to human anti-VWF antibodies labeled with I-125 (Amersham, UK) and then transferred to intensifier cassettes for autoradiography. VWF multimers were scanned with a densitometer (Scanjet 5200 C; Hewlett Packard, Piscataway, NJ, USA), which resolved the multimers in peaks (OD × mm) and densitometric analysis was performed using a software program (Image Master; Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA). VWF multimers were defined as of low molecular weight (corresponding to bands 1-5), intermediate molecular weight (bands 6-10) and high molecular weight (bands >10). The corresponding areas were computed and expressed as percentage of the total area. ULVWF multimers were considered to be present when the percentage of high molecular weight multimers was higher than 34%, i.e. two standard deviations above the mean values found in the plasma from 50 healthy individuals (28.3±2.7%). A plasma sample

obtained 30 min after the infusion of desmopressin to a normal volunteer and stored in large amounts was always run in each electrophoretic gel to enable a visual assessment of the presence of ULVWF multimers in patients' plasma, since these are consistently present in plasma from normal individuals after an infusion of desmopressin.

Statistical analysis

For continuous variables, differences between patients with and without recurrence were evaluated by the Mann-Whitney U test. For discrete variables, differences were evaluated by means of the χ^2 test or Fisher's exact test. The Kolmogorov-Smirnov test was used to test for normality of the distribution of continuous variables; Spearman's rank order correlation coefficient was used to investigate the correlation between variables. Logistic regression analysis was applied to compute odds ratios and 95% confidence intervals, which were used as an estimate of the likelihood of recurrence associated with the factors under investigation. Adjusted odds ratios were obtained from a linear logistic model that included the factor of interest and all of the remaining factors we wanted to adjust for; unadjusted odds ratios were obtained from a model that included only the factor of interest. *p* values less than 0.05 were considered statistically significant. Analyses were performed using the SPSS package version 14.0.

Results

Table 1 gives the main features pertaining to the 63 patients who did not relapse compared with the 46 patients who had recurrences. Even though TTP was twice more frequent in women than in men, gender was not a risk factor for recurrence (odds ratio 0.73; 95% confidence interval 0.31 to 1.73; *p*=0.5). The presence of associated conditions or diseases at remission and/or during the first acute episode was not associated with the likelihood of recurrence (odds ratio 1.1; 95% confidence interval 0.5 to 2.5; *p*=0.7).

ADAMTS13 activity

A severe deficiency of ADAMTS13 activity (10% or less) was found in 32% of patients at remission. Patients with recurrent TTP had significantly lower levels of ADAMTS13 activity at the time of the first remission than those without recurrence: median ADAMTS13 activity was 12% (range, <6% to 142%) vs. 41% (range, <6% to 153%), *p*=0.007 (Figure 2). Furthermore, the prevalence of patients with severe protease deficiency was higher in patients with recurrent TTP (46% vs. 22%, *p*=0.01). The unadjusted odds ratio, taken as an index of the likelihood of recurrence in patients with severe deficiency of ADAMTS13 activity at remission, was 2.9 (95% confidence interval 1.3 to 6.8) (Figure 3). The likelihood of recurrence associated with severe ADAMTS13 deficiency remained statistically significant when multivariate analysis was performed taking as co-variables sex (odds ratio 2.9; 95% confidence interval 1.3

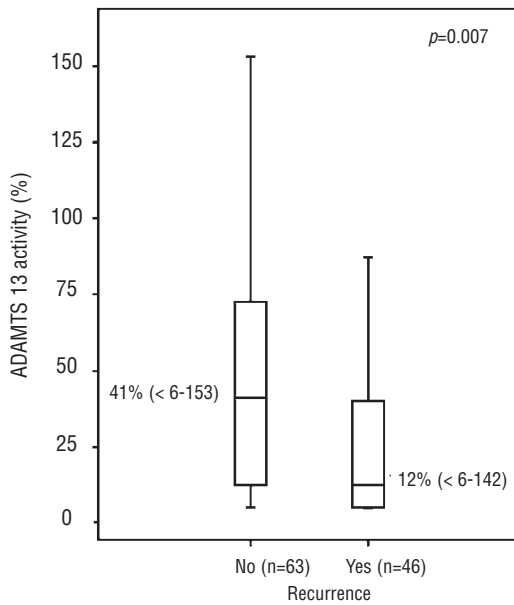


Figure 2. ADAMTS13 activity measured at remission in 46 patients with (Yes) or in 63 without (No) recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Boxes represent the quartile range, and the solid horizontal lines the corresponding median values. Whiskers at the top and bottom of the boxes show the highest and lowest values.

to 6.8), age (odds ratio 2.8; 95% confidence interval 1.2 to 6.4) and associated conditions or diseases (odds ratio 3.0; 95% confidence interval 1.3 to 6.8), as well as when all covariates were included in the model (odds ratio 2.7; 95% confidence interval 1.2 to 6.4).

ADAMTS13 antigen

Plasma levels of ADAMTS13 activity and antigen measured in 77 patients during remission were positively correlated (Spearman’s rho: 0.71), but some patients had antigen values higher than the corresponding activity values (Figure 4). Accordingly, among 21 patients (27%) with severe deficiency of protease activity (10% or less), three (14%) had normal antigen values (46% or more). Patients with recurrent TTP had significantly lower levels of ADAMTS13 antigen than those with no recurrence (median and ranges: 36%, <2% to 101%, vs. 58%, <2 to 122%; $p=0.003$) (Figure

5). Severe antigen deficiency (10% or less) was found in only 8% of them. When severe deficiency of ADAMTS13 antigen was used to evaluate the likelihood of recurrence, the unadjusted odds ratio was not statistically significant (odds ratio 1.4; 95% confidence interval 0.3 to 7.2) (Figure 3), and the same was also found after adjustment for sex, age and associated conditions or diseases.

Anti-ADAMTS13 antibodies

Of 97 plasma samples tested, 47 (48%) had anti-ADAMTS13 antibodies by western blot analysis, and among them 29 (62%) also had inhibitory activity. The prevalence of any anti-ADAMTS13 antibody (whether or not inhibiting protease activity) was significantly different ($p=0.006$) in patients with or without recurrence: 64% of patients with recurrent TTP had anti-ADAMTS13 antibodies during remission (of these, 70% had inhibitory activity), whereas only 36% of those without recurrence had anti-ADAMTS13 antibodies (50% had inhibitory activity). The unadjusted odds ratios for recurrence at remission were 3.1 (95% confidence interval 1.4 to 7.3) for patients with anti-ADAMTS13 antibodies by western blot and 3.1 (95% confidence interval 1.1 to 9.1) for those with inhibitors (Figure 3). Because all the patients with severe deficiency of ADAMTS13 activity also had anti-ADAMTS13 antibodies by western blot analysis, it was impossible to evaluate the independent role of each risk factor. However, because not all the patients with anti-ADAMTS13 antibodies had severe ADAMTS13 deficiency, the unadjusted odds ratio for recurrence in patients with the presence of both abnormalities during remission was 3.6 (95% confidence interval 1.4 to 9.0; $p=0.006$) (Figure 3).

VWF measurements

Higher VWF:Ag levels were observed in 103 patients at remission than in 100 healthy individuals comparable for sex and age (median: 160% vs. 104%, $p<0.0001$), with no significant difference between patients with or without recurrence (166% vs. 154%, $p=0.3$). ULVWF multimers were present in 12 of 79 tested patients (15%), five of whom had severe deficiency of ADAMTS13 activity and seven of whom had measurable levels. No difference was

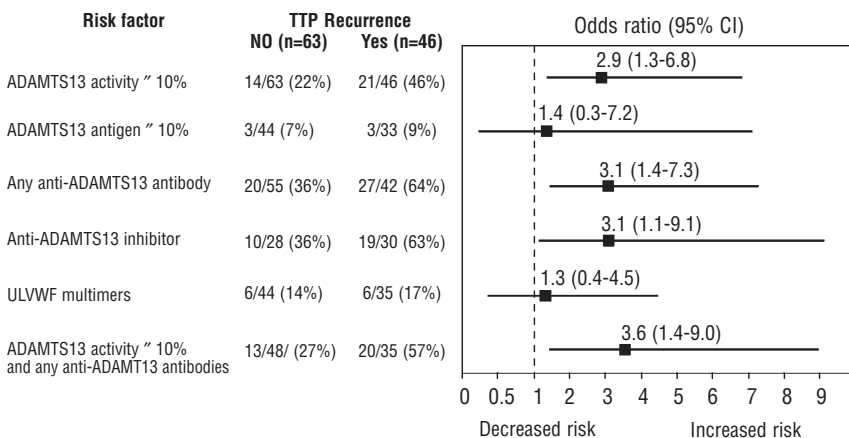


Figure 3. Markers of thrombotic thrombocytopenic purpura recurrence. Odds ratios are shown as solid squares with the 95% confidence intervals (95%CI) represented by horizontal bars. Odds ratios for the dichotomous variables are relative to a reference group of patients without the corresponding variable.

observed between patients with or without recurrence (17% vs. 14%; odds ratio 1.3; 95% confidence interval 0.4 to 4.5; $p=0.7$) (Figure 3).

Discussion

Even though the most common presentation of acquired TTP is a single acute episode, at least one third of the patients who survive the first episode relapse.¹³⁻¹⁷ We retrospectively analyzed a cohort of 109 patients who met standard clinical and laboratory criteria for a diagnosis of a first acute episode of TTP, and compared those with or without recurrence (46 versus 63) for various measurements of ADAMTS13 and VWF obtained in plasma during the first remission, at a time when each patient was off therapy with plasma and clinically stable. Survivors of an acute episode of TTP with severely reduced levels of the VWF-cleaving protease ADAMTS13 during remission (10% or less) had a nearly 3-fold greater likelihood of developing another episode of TTP than those with higher protease activity. The search for predictors of TTP recurrence was also the focus of a study by Ferrari *et al.*,²⁷ who investigated 32 patients who had low plasma levels of ADAMTS13 activity at the time of the first acute episode of TTP and subsequently achieved remission. Persistence of low ADAMTS13 activity at remission was a predictor of recurrence, which occurred in six patients (19%) during the follow-up.²⁷ The study by Ferrari *et al.* and our own study both support the view that finding low levels of ADAMTS13 activity during first remission helps to predict recurrence. The predictive value of a severe deficiency of protease activity was also established in a large cohort of patients reported by Johnson *et al.*,²⁰ although the patients were tested during the acute phase of TTP, not during remission as done by Ferrari *et al.*²⁷ and ourselves.

ADAMTS13 was also measured as immunoreactive protein during remission in approximately two-thirds of the patients. Patients with recurrent TTP had, on average, lower levels of ADAMTS13 antigen than those without recurrence but, at variance with our findings pertaining to ADAMTS13 activity, a severe deficiency of the ADAMTS13 antigen was not associated with a higher likelihood of recurrence. This is perhaps due to the smaller sample size and/or to the fact that there were far fewer patients with severe deficiency of ADAMTS13 antigen than with severe activity deficiency. The discrepancy between activity and antigen levels in plasma might indicate that during remission at least some patients have ADAMTS13/anti-ADAMTS13 immune complexes that react in the immunoassay, as previously observed by Rieger *et al.*²⁸ in acute TTP. Another possible explanation for the discrepancy is that the high plasma levels of VWF found in the majority of our patients may have led to spuriously low levels of ADAMTS13 activity as measured by the collagen binding assay, whereas the immunoassay of ADAMTS13 is not affected by VWF levels. In the patients who had lower activity than antigen values, plasma VWF levels were indeed similar to those who had low values with

both the assays (*data not shown*). Moreover, our previous *in vitro* studies carried out adding VWF to test samples showed that VWF interference in the collagen binding assay is not prominent, at least at VWF levels such as those measured in our patients.²⁴

In this study, anti-ADAMTS13 antibodies were measured using two different assay methods: one based on the degree of neutralization of protease activity in a mixture of control and test plasma and another based upon western blot analysis, using recombinant ADAMTS13 as a source of antigen. In a preliminary study we showed that the qualitative western blot method is more sensitive than the inhibitor assay,

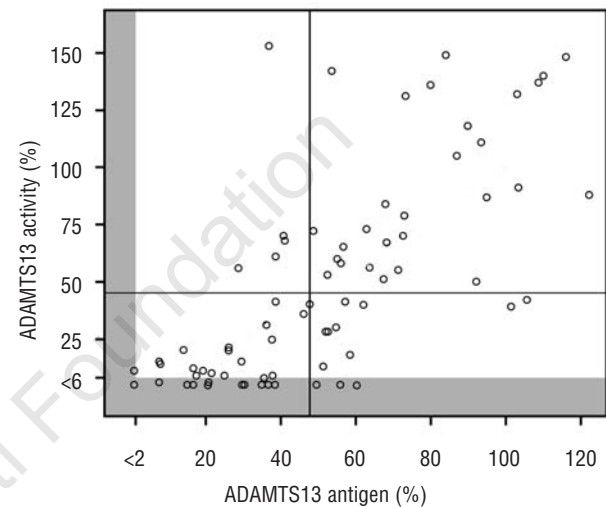


Figure 4. Comparison of ADAMTS13 activity and antigen in 77 patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission after the acute episode. The vertical and the horizontal lines indicate the lower limits of the normal range of ADAMTS13 antigen and activity. The gray areas indicate the sensitivity limits of the ADAMTS13 activity and antigen assays (see “Methods” section).

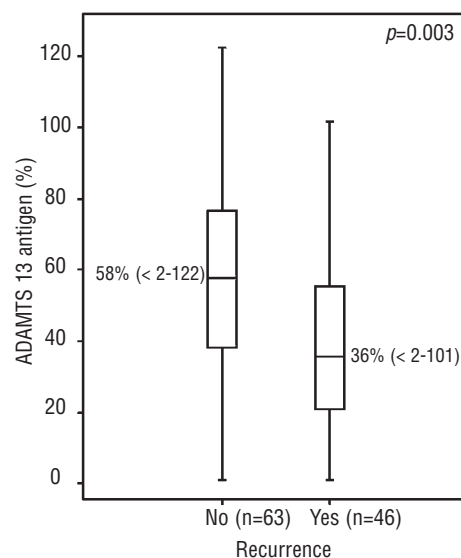


Figure 5. ADAMTS13 antigen measured at remission in patients with (Yes) or without (No) recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Boxes represent the quartile range, and the solid horizontal lines the corresponding median values. Whiskers at the top and bottom of the boxes show the highest and lowest values.

because it was often positive in patients who tested negative in the inhibitor assays.²⁹ The presence of anti-ADAMTS13 antibodies, whether they did or did not inhibit protease activity, increased the likelihood of TTP recurrence by approximately 3-fold. The association of anti-ADAMTS13 antibodies with recurrence was also surmised by Luken *et al.*³⁰ who, in a patient with a long-standing remission of TTP, identified persisting oligoclonal B cells capable of producing antibodies to ADAMTS13, thereby implicating the proliferation of these residual B cells and the potential of the autoimmune process to relapse. ULVWF multimers are not a constant finding in patients with recurrent acquired TTP,³¹ whereas they are in congenital cases.³² We found that the presence of ULVWF multimers did not predict recurrence, and that a number of patients with normal ADAMTS13 had ultralarge multimers. The latter observation corroborates the views that abnormalities of VWF-cleaving proteases other than ADAMTS13 or of disulfide isomerases may be involved in the pathogenesis of some cases of TTP.³¹ Unlike Johnson *et al.*,²⁰ we did not find that increasing age, male sex and the presence or absence of associated diseases or conditions at remission were markers of a greater likelihood of recurrence.

The limits of this study are its retrospective nature and the heterogeneity of a cohort referred to a tertiary care center from an array of different centers. No information was available on the occurrence of recurrence in approximately one-third of the original patients, who were excluded because no plasma sample was obtained during remission. The diagnoses of TTP made by the referring centers were scrutinized and adjudicated centrally using standard clinical and laboratory criteria, albeit based mainly on the exclusion of other diseases.²¹ Given their referral to a tertiary care center, our patients likely form a cohort selected for the clinical severity of the disease; nevertheless, it is mainly in severe cases and in centers with limited experience and facilities for treatment that the possibility of predicting recurrence during remission is more cogent. The predictive value of severe ADAMTS13 deficiency and/or anti-protease antibodies as measured during remission was statistically significant but of limited robustness, because the confidence intervals of the odds ratios were wide. Not all the patients with these abnormalities had recurrences, and recurrences occurred also in patients without them. Hence, this study is unable to give a final answer on the best predictors of TTP recurrence during remission, and it is only hypothesis-generating. A large multinational prospective study based on ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 measurements carried out at frequent and defined intervals after the acute episode is warranted. Despite these limitations, our results help in the consideration of strategies that might be adopted to prevent relapse, a risk that looms large in patients after acute TTP. Possible prophylactic strategies include the eradication of inhibitory autoantibodies by immunosuppressive agents and correction of low ADAMTS13 levels by means of replacement therapy. The most promising immunosuppressive treatment to date is

rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody), because, according to a survey of 12 publications reporting on 27 patients treated for chronic recurrent TTP and followed for 3-28 months, only three patients (11%) relapsed.³³ However, reporting bias is common and may skew the efficacy assessment of treatment based on case reports. Our findings, suggesting that anti-ADAMTS13 antibodies and low ADAMTS13 levels are associated with a greater likelihood of recurrence, set the stage for a randomized clinical trial, comparing during TTP remission the efficacy of replacement therapy, rituximab or both in the prevention of recurrence.

Authorship and Disclosures

FP designed the study and wrote the manuscript; SL and RP analyzed the results and contributed to writing the manuscript; HBE, KV, CV and MTC performed experimental work (ADAMTS13 antigen and activity measurement, determination of anti-ADAMTS13 antibody (with and without inhibiting activity, VWF antigen and multimers evaluation); TB performed the statistical analysis; FF, SZ, MR, DM, MK, LL and GG referred a large number of TTP patients; PMM critically revised the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript.

The authors reported no potential conflicts of interest.

Appendix

We gratefully acknowledge the following participating centers that provided patients' samples and information.

Italian Centers: C. Balduini and P. Noris, IRCCS San Matteo Hospital, Pavia; D. Grisillo, M. Caremani and U. Occhini, S. Donato Hospital, Arezzo; M. Benucci, Nuovo Ospedale San Giovanni di Dio, Florence; V. Santini, AO Careggi, Florence; R. Vallone, AO G. Rummo, Benevento; Zatoni and Spinzi, Valduce Hospital, Como; C. Cristofalo, A. Perrino Hospital, Brindisi; M. G. Mazzucconi and C. Santoro, La Sapienza University, Rome; P. Spedini and M. Tajana, AIO Cremona; L. Zighetti and G. Gerli, S. Paolo Hospital, Milan; L. Gatti, M. Agnelli, M. Colombi and A. Zanella, IRCCS Maggiore Hospital, Mangiagalli and Regina Elena Foundation, Milan; S. Morandi, Istituti Ospedalieri, Cremona; G. Rossi, Ospedali Civili, Brescia; S. Sammassimo, AO Senese, Siena; M. C. Refe and A. Gabrielli, Ospedali Riuniti, Ancona; M. Simoncelli, Infermi Hospital, Rimini; E. Venegoni and G. Fornaroli, Magenta Hospital, Magenta; M. C. Bertocelli, S. Colombi, D. Rossi and G. Gaidano, AO Maggiore della Carità, Novara; Pizzuti, S. Carlo Hospital, Potenza; R. De Cristofaro, Catholic University School of Medicine, Rome; S. Bulgarelli, AO Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia; A. Caddori, G. Brotzu Hospital, Cagliari; F. Marongiu and A. Solinas, Policlinico Universitario, Cagliari; L. Sottile, Policlinico Universitario, Messina; G

Leopardi and C. Cecchini, S.Salvatore Hospital, Pesaro.

International Centers: B. Andjelic and D. Vucelic, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia; C. Mavragani, Medical School of Athens, Greece; M. B. Dolnicar,

University Children Hospital Ljubljana; M. Tombuloglu and O. Taylan, Ege Universitesi Tip Fakultesi Dahiliye AD Hematoloji BD Bornova, Izmir, Turkey; G. Huseyin, Trakya University, Erdine, Turkey.

References

- Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* 2002;347:589-600.
- Gerritsen HE, Robles R, Lammle B, Furlan M. Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. *Blood* 2001;98:1654-61.
- Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2001;98:1662-6.
- Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001;276:41059-63.
- Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco LH, Hellums JD. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest* 1986;78:1456-61.
- Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Wassmer M, Sandoz P, Lammle B. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1997;89:3097-103.
- Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998;339: 1578-84.
- Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1998;339:1585-94.
- Tsai HM, Li A, Rock G. Inhibitors of von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Clin Lab* 2001;47:387-92.
- Rieger M, Mannucci PM, Kremer Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbauer G, Konetschny C, et al. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood* 2005;106: 1262-7.
- Tsai HM, Raoufi M, Zhou W, Guinto E, Grafos N, Ranzurnal S, et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 2006;95:886-92.
- Shelat SGP, Smith J, Zheng XL. Inhibitory antibodies against ADAMTS-13 in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura bind ADAMTS-13 protease and may accelerate its clearance in vivo. *J Thromb Haemost* 2006;4:1707-17.
- Willis MS, Bandarenko N. Relapse of thrombotic thrombocytopenic purpura: is it a continuum of disease? *Semin Thromb Hemost* 2005;31:700-8.
- Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004;1:407-23.
- George JN. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2000;96:1223-9.
- Shumak KH, Rock GA, Nair RC. Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Canadian Apheresis Group. Ann Intern Med* 1995;122:569-72.
- Bandarenko N, Brecher ME. United States Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Apheresis Study Group (US TTP ASG): multicenter survey and retrospective analysis of current efficacy of therapeutic plasma exchange. *J Clin Apher* 1998;13:133-41.
- Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE. Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004;103: 4043-9.
- Vesely SK, George JN, Lammle B, Studt JD, Alberio L, El-Harake MA, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood* 2003;102:60-8.
- Johnson KK, Terrell DR, Lammle B, Kremer Hovinga JA, George JN, Vesely SK. Predicting risk for relapse in patients who have recovered from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2006;108:51a. Abstract 91.
- Allford SL, Hunt BJ, Rose P, Machin SJ. Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. *Br J Haematol* 2003;120:556-73.
- Peyvandi F, Ferrari S, Lavoretano S, Canciani MT, Mannucci PM. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) and ADAMTS-13 neutralizing antibodies in 100 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2004;127:433-9.
- Gerritsen HE, Turecek PL, Schwarz HP, Lammle B, Furlan M. Assay of von Willebrand factor (vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Thromb Haemost* 1999;82:1386-9.
- Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. *Blood* 2001;98:2730-5.
- Feys HB, Liu F, Dong N, Pareyn I, Vauterin S, Vandeputte N, et al. ADAMTS-13 plasma level determination uncovers antigen absence in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura and ethnic differences. *J Thromb Haemost* 2006;4:955-62.
- De Cristofaro R, Peyvandi F, Palla R, Lavoretano S, Lombardi R, Merati G, et al. Role of chloride ions in modulation of the interaction between von Willebrand factor and ADAMTS-13. *J Biol Chem* 2005;280:23295-302.
- Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, Mudde G, Wolf M, Coppo P, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS13 antibodies features (Ig isotype, titer and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with an undetectable ADAMTS13 activity. *Blood* 2007;109:2815-22.
- Rieger M, Ferrari S, Kremer Hovinga JA, Konetschny C, Herzog A, Koller L, et al. Relation between ADAMTS13 activity and ADAMTS13 antigen levels in healthy donors and patients with thrombotic microangiopathies (TMA). *Thromb Haemost* 2006;95:212-20.
- Palla R, Valsecchi C, Bajetta MT, Canciani MT, Lavoretano S, Mannucci PM, et al. Determination of anti-ADAMTS13 autoantibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) patients: comparison of two different methods. *J Thromb Haemost* 2007;5 [Suppl 2]:P-T-303.
- Luken BM, Kaijen PHP, Turenhout EA, Kremer Hovinga JA, van Mourik JA, Fijnheer R, et al. Multiple B-cell clones producing antibodies directed to the spacer and disintegrin/thrombospondin type-1 repeat 1 (TSP1) of ADAMTS13 in a patient with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2006;4:2355-64.
- Remuzzi G, Galbusera M, Noris M, Canciani MT, Daina E, Bresin E, et al. Italian Registry of Recurrent and Familial HUS/TTP. Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2002;100:778-85.
- Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colanino NM, Azocar J, et al. Unusually large plasma factor VIII. von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med* 1982;307:1432-5.
- George JN, Woodson RD, Kiss JE, Kojouri K, Vesely SK. Rituximab therapy for thrombotic thrombocytopenic purpura: a proposed study of the Transfusion Medicine/ Hemostasis Clinical Trials Network with a systematic review of rituximab therapy for immune-mediated disorders. *J Clin Apher* 2006;21:49-56.